

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Mateja Ruklić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Mateja Ruklić

UKLANJANJE FARMACEUTIKA RO/NF MEMBRANAMA IZ ULTRA
ČISTE VODE U LUŽNATIM UVJETIMA

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc. Davor Dolar

Članovi ispitnog povjerenstva:

Doc. dr. sc. Davor Dolar

Prof. dr. sc. Krešimir Košutić

Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Zagreb, srpanj 2016.

UKLANJANJE FARMACEUTIKA RO/NF MEMBRANAMA IZ ULTRA ČISTE VODE U LUŽNATIM UVJETIMA

Sažetak

Lijekovi imaju važnu ulogu u liječenju i prevenciji bolesti u ljudi i životinja, zbog čega njihova prisutnost u okolišu svakodnevno raste. Većina farmaceutika ispušta se kontinuirano putem kanalizacijskog sustava, te ih je zbog njihovog negativnog utjecaja na okoliš neophodno učinkovito ukloniti.

Ovaj rad ispitivao je učinkovitost i mehanizam uklanjanja farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon i albendazol) reverzno osmotskim (RO) i nanofiltracijskim (NF) membranama (XLE, NF i NF270) iz ultra čiste vode u lužnatim uvjetima. Najveću učinkovitost uklanjanja pokazala je RO XLE membrana. Dominantan mehanizam uklanjanja farmaceutika bio je isključenje veličinom, no utjecaj na učinkovitost uklanjanja imale su i elektrostatske interakcije, te fizikalno-kemijske karakteristike membrana i farmaceutika.

Rezultati FTIR analize pokazali su postojanje interakcija između membrane i farmaceutika, osim kod sulfagvanidina. Uočeno je da povećanjem hidrofobnosti organske komponente interakcije postaju izraženije. Utjecaj farmaceutika na membranski poliamidni sloj uočen je i u promjenama vrijednosti kontaktnog kuta i zeta potencijala.

Ključne riječi: reverzna osmoza, nanofiltracija, farmaceutici, uklanjanje

REMOVAL OF PHARMACEUTICALS WITH RO/NF MEMBRANES FROM MILLIQ WATER IN ALKALI CONDITIONS

Summary

The drugs have an important role in the treatment and prevention of diseases in humans and animals, which means that their presence in the environment is increasing everyday. Most pharmaceuticals released continuously through the sewer system and because of their negative impact on the environment it is necessary to remove them effectively.

This study examined the retention and removal mechanism of pharmaceuticals (sulfaguanidine, trimethoprim, hydrocortisone and albendazole) with reverse osmosis (RO) and nanofiltration (NF) membranes (XLE, NF and NF270) from MilliQ water in alkali conditions. The highest removal efficiency showed XLE RO membrane. Dominant rejection mechanism of the examined pharmaceuticals was the size exclusion, but electrostatic interactions and physico-chemical characteristics of the membrane and pharmaceuticals also had an impact.

Results of FTIR analysis proved the existence of interaction between the membrane and pharmaceuticals, except for sulfaguanidine. It has been observed that interactions become more pronounced by increasing the hydrophobicity of the organic compounds. The impact of pharmaceuticals on the membrane polyamide layer also has been noticed in changes of the contact angle and zeta potential.

Key words: reverse osmosis, nanofiltration, pharmaceuticals, retention

Zahvaljujem svom mentoru, doc. dr. sc. Davoru Dolaru na poticaju, stručnim savjetima, te na danoj prilici za izradu diplomskog rada; kao i na pristupačnosti, strpljenju i vremenu koje je posvetio za bilo kakva pitanja i pomoć.

Također zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Danijeli Ašperger na pomoći pri radu s HPLC-om, prof. dr. sc. Mireli Leskovic i doc. dr. sc. Aniti Tarbuk na pomoći prilikom izvedbe rada.

Posebna zahvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj potpori, pomoći i razumijevanju tijekom cijelog studija.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Membranski separacijski procesi	2
2.1.1. Nanofiltracija i reverzna osmoza	3
2.2. Membrane	4
2.2.1. Klasifikacija membrana	4
2.2.1.1. Kemijska priroda	4
2.2.1.2. Fizikalna morfologija	5
2.2.1.3. Mehanizam zadržavanja/separacije	6
2.2.2. Karakterizacija membrana	7
2.2.2.1. Radni parametri	8
2.2.2.2. Morfološki parametri	8
2.2.2.3. Naboj	9
2.3. Mikroonečišćivala	10
2.3.1. Farmaceutici	10
2.3.2. Uklanjanje farmaceutika s RO/NF membranama	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1. Materijali	15
3.1.1. Membrane	15
3.1.2. Farmaceutici	16
3.2. Uređaji za mjerenje	19
3.2.1. Laboratorijski RO/NF uređaj	19
3.2.2. Ostali uređaji za mjerenje	20
3.2.2.1. Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala	20
3.2.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti	20
3.2.2.1. Goniometar	20
3.2.2.4. Elektrokinetički analizator	21
3.3. Postupak i uvjeti rada na laboratorijskom RO/NF uređaju	21
3.3.1. Predobrada	21
3.3.2. Ispitivanje zadržavanja modelnih otopina farmaceutika	22

4. REZULTATI I RASPRAVA	23
4.1. Karakterizacija membrana	23
4.2. Zadržavanje odabranih farmaceutika	24
4.2.1. Uklanjanje sulfagvanidina RO/NF membranama	27
4.2.2. Uklanjanje trimetoprima RO/NF membranama	32
4.2.3. Uklanjanje hidrokortizona RO/NF membranama	37
4.2.4. Uklanjanje albendazola RO/NF membranama	42
 5. ZAKLJUČAK	 47
 6. POPIS SIMBOLA	 48
 7. LITERATURA	 50
 8. ŽIVOTOPIS	 53



1. UVOD



Lijekovi imaju važnu ulogu u liječenju i prevenciji bolesti u ljudi i životinja, no zbog svoje prirode također mogu imati neželjene učinke na okoliš. Spadaju u skupinu sintetskih organskih tvari poznatih pod pojmom „nova zagađivala“. Njihova fizikalno–kemijska svojstva predstavljaju potencijalnu opasnost za okoliš i ljudsko zdravlje. Svijest o njihovoj opasnosti počela se buditi unatrag nekoliko desetljeća. Većina farmaceutika ispušta se u okoliš kontinuirano putem kanalizacijskog sustava industrija i domaćinstava. Najveći problem predstavljaju upravo lijekovi koji se koriste u humanoj i veterinarskoj praksi. Navedeni spojevi su prvenstveno i najčešće izloženi metabolizmu korisnika, nakon čega su izlučeni metaboliti i nepromijenjeni izvorni spojevi izloženi daljnjim promjenama prilikom klasične obrade otpadnih kanalizacijskih voda. Danas su farmaceutici predmet istraživanja velikog broja znanstvenika, zato što se u humanoj i veterinarskoj medicini upotrebljava velik broj različitih lijekova. Za veći broj zagađivala nisu poznati podaci o toksičnosti te opasnosti koje mogu uzrokovati [1].

Novije analitičke tehnike, kao što su tekućinska kromatografija u kombinaciji s masenom spektrometrijom (LC-MS-MS), omogućuju određivanje koncentracije lijekova u postrojenjima za obradu otpadnih voda, tla, površinskih i podzemnih voda [2]. Njihova prisutnost mjeri se u vrlo malim koncentracijama od nekoliko $\mu\text{g/L}$ do nekoliko ng/L . U svijetu sve veću primjenu u obradi otpadnih voda imaju membranski separacijski postupci, pri čemu su se reverzna osmoza (RO) i nanofiltracija (NF) pokazale kao veoma učinkovite metode za uklanjanje farmaceutika iz voda [1].

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati učinkovitost uklanjanja farmaceutika RO/NF membranama iz ultra čiste vode u lužnatim uvjetima ($\text{pH} = 10$). Ispitane su dvije nanofiltracijske (NF i NF270) i jedna reverzno osmotska (XLE) membrana za četiri farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon i albendazol). Osim toga provedena je i karakterizacija membrana analizom kemijskog sastava membranske površine infracrvenom spektrofotometrijom s Fourierovom transformacijom signala (FTIR), te su mjerene vrijednosti kontaktnog kuta i zeta potencijala kako bi se detaljnije utvrdio mehanizam zadržavanja farmaceutika iz vode.

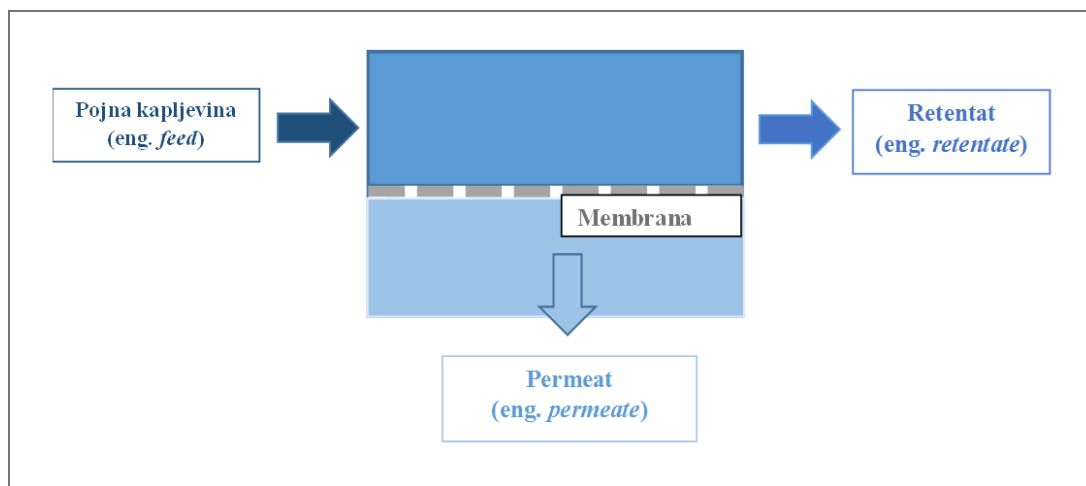


2. OPĆI DIO



2.1. Membranski separacijski procesi

Membranski separacijski procesi mogu se definirati kao postupci koji pomoću membrane ulaznu struju (pojnu kapljevину, eng. *feed*) dijele u dvije struje: permeat (eng. *permeate*) i retentat (koncentrat, eng. *retentate*) kao što je prikazano na slici 2.1.



Slika 2.1. Shematski prikaz membranskog separacijskog procesa

Permeat predstavlja struju oslobođenu od tvari prisutnih u otopini, dakle skoro čistu vodu, a retentat predstavlja dio ulazne struje u kojoj su te iste komponente otopine zadržane i na taj način višestruko koncentrirane [1]. Membrana je srce svake membranske operacije i definira se kao tanki film (međufaza) koja dijeli dvije faze i/ili djeluje kao aktivna ili pasivna tanka fizikalna pregrada prijenosu tvari između dviju faza. Ova se definicija odnosi na permselektivne membrane i podrazumijeva da postoji razlika kemijskog potencijala između dviju faza. Membrana je funkcionalan, aktivan, rjeđe pasivan, materijal. Do separacije dolazi jer membrana ima sposobnost da prenese jednu komponentu pojne kapljevine, smjese mnogo lakše nego ostale komponente [3].

Membranski procesi su dizajnirani tako da omogućuju fizikalnu ili fizikalno-kemijsku separaciju odabranih komponenata [4] potaknutu odgovarajućom pokretačkom silom.

Pokretačka sila može biti:

- razlika koncentracija (Δc),
- razlika tlakova (Δp),
- razlika temperature (ΔT) i
- razlika električnog potencijala (ΔE) [1, 4].

Od membranskih separacijskih postupaka najveću praktičnu primjenu imaju tlačni membranski postupci: mikrofiltracija (MF), ultrafiltracija (UF), NF i RO. Osnovna razlika između ovih postupaka je vrsta upotrijebljenih membrana (odnosno njihova veličina pora) i tlak koji je potrebno primijeniti da bi došlo do uspješnog razdvajanja komponenti u nekom sustavu [1, 5]. Za navedene membranske separacijske postupke veličina pora pada od mikrofiltracije do reverzne osmoze, a time raste radni tlak budući da je hidrodinamički otpor sve veći [1].

2.1.1. Nanofiltracija i reverzna osmoza

Nanofiltracija i RO upotrebljavaju se za uklanjanje nisko molekulskih otopljenih tvari (anorganskih kontaminanata, anorganskih soli ili malih organskih molekula) iz vode. Kod oba procesa princip separacije je jednak pa se u pravilu oni smatraju jednim procesom [6].

U oba procesa separacija se postiže primjenom tlaka većeg od osmotskog na otopinu koja se tretira. Osmotski tlak ($\Delta\pi$) je rezultat prirodne tendencije vode da migrira iz razrijeđenije u koncentriraniju otopinu zbog izjednačavanja kemijskog potencijala s obje strane membrane. Primjenom većeg tlaka od osmotskog na otopinu ($\Delta p > \Delta\pi$) voda mijenja prirodni tok i teče iz koncentriranije u razrijeđenu otopinu kroz polupropusnu membranu.

Prosječne vrijednosti radnih tlakova koje se upotrebljavaju za NF procese iznose najviše 20 bar. Radni tlakovi za RO veći su od tlakova za NF i kreću se od 20 do 80 bar [1].

Osim razlike u radnom tlaku, NF se od RO razlikuje i u vrsti membrane. RO membrane su asimetrične ili kompozitne membrane najčešće pripravljene od celuloznih derivata, aromatskih poliamida, poliamida i poliestera, dok su NF membrane kompozitne poliamidne membrane.

Nanofiltracijske i reverzno osmotske membrane nalaze se između otvorenih poroznih membrana (MF i UF) i gustih neporoznih membrana (pervaporacija) i pri neutralnom pH (pH = 7) negativno su nabijene zbog disocijacije karbonilnih ($>C=O$) i amino grupa ($-NH_2$). Zbog njihove velike otpornosti moraju se koristiti značajno veći tlakovi da bi određena količina otapala prošla kroz membranu [1, 6].

Nanofiltracijske membrane slične su reverzno osmotskim samo je njihova struktura otvorenija. To utječe na razlike u zadržavanju jednovalentnih i dvovalentnih iona. Nanofiltracijske membrane dizajnirane su za uklanjanje viševalentnih iona (npr. kalcija i magnezija).

Kod nanofiltracije pri zadržavanju tvari iz otopina važnu ulogu ima naboj membrane, a ne samo veličina čestica koje treba zadržati ili pak kod RO gdje su važne različite interakcije membrane i komponenti s kojima membrana dolazi u kontakt [1, 7, 8].

2.2. Membrane

Membrana je osnovni element svake membranske operacije i separacijski učinak bilo kojeg membranskog postupka ovisi o svojstvima i ponašanju membrane [1]. S obzirom na široku primjenu membranskih separacijskih procesa razvile su se tri prihvaćene definicije membrana. Za primjenu membrana u obradi otpadnih voda najprihvaćenija je Soltova definicija koja glasi da je membrana: „*Materijal koji ima sposobnost prenijeti jednu komponentu pojne kapljevine mnogo lakše nego ostale komponente što predstavlja temelj separacije pomoću membrana*“ [4]. Ova definicija se odnosi na permselektivne membrane i podrazumijeva da postoji razlika kemijskog potencijala s obje strane membrane. Stoga se membrana treba promatrati kao funkcionalan i aktivan materijal.

2.2.1. Klasifikacija membrana

Membrane se mogu klasificirati [1, 4] prema:

- *kemijskoj prirodi,*
- *fizikalnoj morfologiji i*
- *mehanizmu zadržavanja.*

2.2.1.1. Kemijska priroda

Prema **kemijskoj prirodi** membrane mogu biti organske (polimerne) i anorganske (keramičke ili metalni oksidi, nitridi i karbidi Al, Zr i Ti).

Organske polimerne membrane dominiraju na tržištu membrana i mogu biti sazdane od bilo kojeg polimernog materijala, npr. celuloza i njezini derivati, aromatski poliamidi (PA), poliakrilonitrili (PAN), polisulfoni (PSf) i polietersulfoni (PES) itd.

Celuloza i njezini derivati su hidrofilni polimeri koji imaju nisku cijenu, malu tendenciju adsorpcije, izvrsna permeabilna svojstva vode i nisku propustljivost za soli. Slaba im je strana podložnost hidrolizi, ne podnose više temperature i bakterijski nisu otporne.

Aromatski poliamidi najčešće se koriste za pripravu najuspješnijih komercijalnih RO/NF membrana. Imaju izvrsna permselektivna svojstva (visoka selektivnost prema solima), bolja termička i kemijska svojstva i bolju hidrolitičku stabilnost od celuloznih estera, ali su jako osjetljive na klor koji izaziva degradaciju amidne grupe i oksidativnu degradaciju.

2.2.1.2. Fizikalna morfologija

Kemijski karakter membrana, tj. vrsta polimera i način na koji su pripravljene (vrsta i stupanj polimerizacije) određuje njihovu **fizikalnu strukturu**, tj. **morfologiju**.

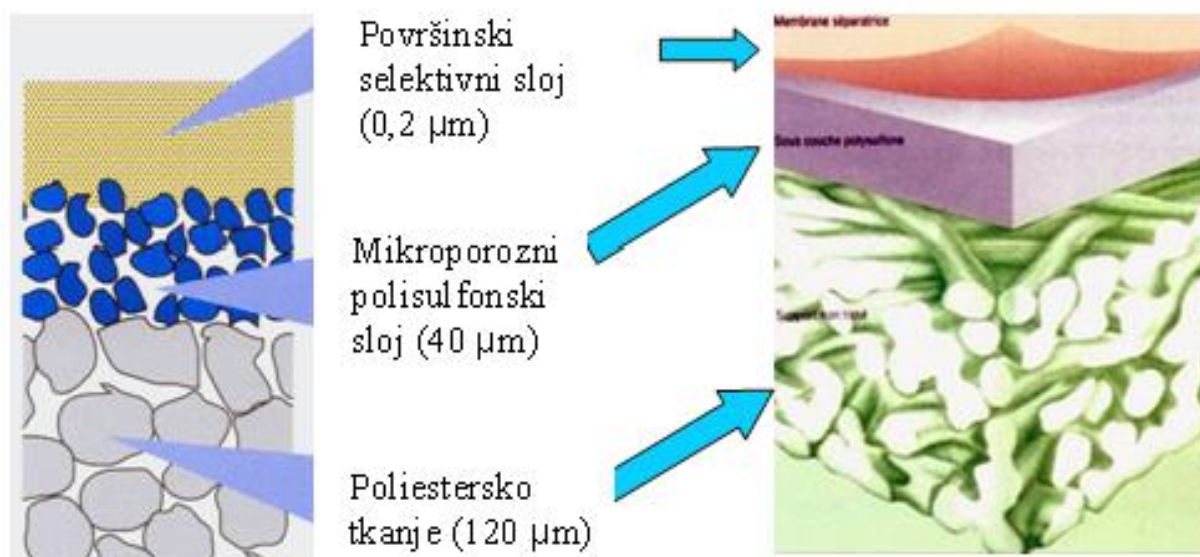
Prema morfologiji ovisi da li je poroznost ista ili različita po cijelom presjeku. Ukoliko je poroznost jednaka govori se o *izotropnim membranama*, dok *anizotropne membrane* karakterizira nejednolika poroznost po vertikalnom presjeku. Za tlačne membranske procese se uglavnom upotrebljavaju anizotropne membrane koje mogu biti asimetrične (od jedne vrste polimera) i kompozitne (sastavljene od više vrsta polimera).

U NF i RO separacijskim procesima dominira upotreba tankoslojnih kompozitnih membrana (TFC - engl. *thin film composite*) [9]. Kompozitne membrane mogu se pripremiti iz različitih materijala i različitim postupcima pripreme.

Tipična kompozitna membrana sastoji se od tri sloja:

- tanki gornji površinski selektivni sloj (eng. *skin*) debljine do 200 nm,
- mikroporozne podloge debljine $\approx 40 \mu\text{m}$ (engl. *supporting sublayer*) i
- poliesterskog tkanja debljine $\approx 120 \mu\text{m}$ koje membrani daje mehaničku stabilnost.

Na slici 2.2 prikazan je presjek kompozitne membrane.



Slika 2.2. Presjek tankoslojne kompozitne membrane (TFC).

Poznato je da o površinskom selektivnom sloju ovise glavna svojstva kompozitne membrane pa se kontinuirano radi na poboljšavanju svojstava selektivnog sloja. Gornji gusti sloj je najkritičniji dio membrane koji određuje permeabilnost, selektivnost, hrapavost površine i hidrofobnost. Površinski selektivni sloj najuspješnijih komercijalnih proizvoda sastavljen je od umreženih aromatskih poliamida koji su proizvedeni međufaznom polimerizacijom. Tipična kompozitna membrana sastoji se od mikroporozne podloge, na koju je naknadno lijevan ultra tanki sloj na gornjoj površini. Podloga je debela, porozna, neselektivna i može podnijeti visoke tlakove.

2.2.1.3. *Mehanizam zadržavanja/separacije*

Mehanizam zadržavanja ili **separacije** ovisi o svojstvima komponente koju treba ukloniti [4, 11], o prirodi otopine [12], o svojstvima aktivnog površinskog sloja membrane [13] i radnim parametrima.

Tri su glavna mehanizma separacije koja ovise o specifičnim svojstvima komponenata koje treba selektivno ukloniti ili zadržati pomoću membrane [1, 3, 10, 11]:

- isključenje veličinom (separacija temeljena na razlici u veličini čestica i veličini pora membrane, tzv. efekt prosijavanja - “sieve“ efekt).

Ovdje je riječ o poroznim membranama koje mogu imati makropore čija je veličina > 50 nm i nanopore (mezopore) veličine 2 - 50 nm. Operacije u kojima dominira ovaj separacijski mehanizam jesu: MF, UF, NF i dijaliza (DIA).

- mehanizam otapanja/difuzije (separacija koja se temelji na razlici u topljivosti i difuzivnosti materijala membrane i otopine koja dolazi u kontakt s membranom).

U ovom slučaju riječ je o gustim, tzv. “*dense*” membranama, a pripadajuće operacije su: permeacija plina (GP), pervaporacija (PV) i RO.

- isključenje nabojem (separacija koja se temelji na razlici u naboju čestica koje treba separirati - elektrokemijski učinak).

Pripadajuće membrane su električki nabijene membrane, tzv. ionsko izmjenjivačke membrane (kationske ili anionske), a operacije u kojima dominira ovaj separacijski mehanizam su elektrodijaliza (ED), Donnanova dijaliza, ali i NF.

2.2.2. Karakterizacija membrana

Membranski procesi pokrivaju široko područje separacijskih slučajeva sa specifičnim membranama (membranskom strukturom). Stoga se membrane mogu značajno razlikovati po svojoj strukturi i prema tome po svojoj funkcionalnosti [3]. Poznavanje membranskih karakteristika od velike je važnosti za uspješno provođenje membranskog separacijskog procesa te određivanje mehanizma zadržavanja komponenata otopljenih u vodi. Vrlo je bitno okarakterizirati membranu, posebno njezin aktivni površinski sloj koji je zaslužan za separaciju željene komponente [1, 14, 15].

Kakva će membrana imati svojstva, koeficijent zadržavanja i protok permeata, najviše ovisi o poroznosti membrane (naročito njezinog gornjeg selektivnog sloja), a manje o radnim varijablama sustava, kao što su radni tlak i koncentracija otopljene tvari.

Metode karakterizacije prema nekim autorima mogu se podijeliti u tri grupe [1]:

- radni parametri,
- morfološki parametri i
- naboj.

2.2.2.1. Radni parametri

Pod radnim parametrima podrazumijevaju se mjerenja zadržavanja i protoka nabijenih i nenabijenih molekula (za vodene i organske otopine), te mjerenje protoka vode jer te otopine daju izravne informacije o karakteristikama membrana u prirodnom okruženju.

Membrane imaju različite karakteristike i morfologiju što se može primijetiti kod zadržavanja ionskih tvari u vodi. Kod nabijenih membrana Donnanov efekt često dominira ili doprinosi zadržavanju, što znači da će ioni istog naboja (nabijene molekule) biti efektivno zadržani. Zadržavanje dakle ovisi o naboju membrane, ali i o radijusu iona, difuzivnosti, koncentraciji, protoku, pH [1]. U slučaju nenabijenih molekula Donnanov efekt ne doprinosi separaciji zbog nepostojanja interakcije naboja između njih i nabijene membranske površine [13].

Kod poroznih membrana (npr. porozne anorganske membrane) do zadržavanja dolazi uslijed isključenja po veličini koji povezuje veličinu pora i veličinu otopljene tvari, a kod neporoznih membrana javlja se transport koji se temelji na interakcijama membrana otopina i difuziji otopine. Zbog činjenice da pore nemaju iste dimenzije, odnosno da je za svaku membranu tipična krivulja veličinske raspodjele pora (VRP krivulja), često se kao parametar za karakterizaciju membrana koristi granična molekulska masa komponente (MWCO). MWCO se definira kao molekulska masa komponente koju membrana zadržava najmanje 90 %. Kod ultrafiltracije MWCO je dobar parametar za karakterizaciju jer je prisutan mehanizam zadržavanja čestica po veličini, ali kod nanofiltracije treba uzeti u obzir i druge parametre kao što su prije svega naboj, ali i adsorpcija, koncentracijska polarizacija, koncentracija, tlak. Van der Bruggen i sur. [16] pokazali su da drugi parametri (veličina, oblik, topljivost, interakcije, hidrofobnost itd.) također utječu na zadržavanje [1].

Najjednostavnija eksperimentalna karakterizacija je određivanje protoka čiste vode za svaku membranu, koju dobivamo određivanjem protoka vode u ovisnosti o tlaku. Košutić i sur. [17] su iz ovisnosti protoka o tlaku (koja je gotovo linearna) dobili dva karakteristična parametra (α i $\ln K$). Međutim, ne postoji jedinstvena korelacija između protoka i zadržavanja. Dobivene vrijednosti za protok vode mogu ovisiti o kvaliteti vode i o predtretmanu membrane [1].

2.2.2.2. Morfološki parametri

Poznavanje morfoloških parametara može pomoći pri procjeni ponašanja same membrane prilikom procesa separacije. Uglavnom se karakteriziraju mjerenjem membranske

hidrofobnosti, hrapavosti površine i određivanjem kemijske strukture membrane (funkcionalnih skupina prisutnih u aktivnom površinskom sloju) [1, 14, 18].

Mjerenje kontaktnog kuta vrlo je rasprostranjena metoda za određivanje hidrofobnosti čvrstih materijala. U membranskoj znanosti kontaktni kut je mjera koja označava stupanj kvašenja membrane, tj. količinu vode koja će se adsorbirati što se interpretira kao hidrofobnost membrane. Kada voda pokazuje mali kontaktni kut (niži od 90°), površina ima sposobnost međudjelovanja s molekulama vode (dipolima). Dolazi do interakcija disocirajućih grupa na površini membrana s molekulama vode i takva je površina hidrofilna. Kada je kontaktni kut blizu ili iznad 90° membrana je hidrofobna [1].

Hrapavost površine, tj. karakterizacija površine membrane ili njezinog poprečnog presjeka određuje se vrlo učinkovitim mikroskopskim metodama. U mikroskopske metode ubrajaju se elektronski pretražni mikroskop visoke energije zračenja, SEM, elektronski pretražni mikroskop niske energije zračenja, FESEM, transmisijski elektronski mikroskop, TEM i mikroskopija atomskim silama, AFM. Mikroskopskim metodama izravno se dobije informacija o membranskoj morfologiji (oblik, veličina i raspodjela te gustoća pora i struktura presjeka membrane), ali se ne može odrediti duljina i savijenost pora [1].

Za karakterizaciju membrana koriste se i mnoge spektroskopske metode. Jedna od njih je infracrvena spektrofotometrija s Fourierovom transformacijom signala, FTIR koja se koristi za detektiranje funkcionalnih skupina prisutnih u membrani. ATR–FTIR (engl. *Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) spektroskopija ima dubinu penetracije od nekoliko stotina nm do nekoliko μm ovisno o ulaznoj valnoj duljini. Ta metoda je više površinski osjetljiva u području visokih valnih duljina s dubinom penetracije $< \sim 200 \text{ nm}$ duž $4000 - 2600 \text{ cm}^{-1}$. Dubina penetracije je veća od 300 nm pri valnim duljinama manjim od 2000 cm^{-1} , što znači da je moguće dobiti kemijske informacije površinski selektivnog sloja i polisulfonske podloge. ATR–FTIR spektri (ovisnost apsorbancije i valne duljine) snimaju se pri sobnoj temperaturi i uzorci se suše pri sobnoj temperaturi [1].

2.2.2.3. Naboj

Elektrokinetička mjerenja koriste se za određivanje naboja membrane pri čemu se određuje zeta potencijal površine (ζ) metodom potencijala strujanja. Površina membrane u kontaktu s otopinom elektrolita postaje nabijena. Nastali naboj rezultat je disocijacije funkcionalnih skupina prisutnih u selektivnom površinskom sloju membrane. Osim

membranske površine i pore membrane mogu postati negativno nabijene uslijed izlaganja otopini elektrolita. Površina poliamidnih membrana nosi negativan naboj što je uglavnom posljedica deprotonacije sulfonil-hidroksilnih ($\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$), hidroksilnih ($-\text{OH}$) i karbonilnih ($>\text{C}=\text{O}$) funkcionalnih skupina [11]. Deprotonacija $>\text{C}=\text{O}$ skupina odvija se između pH vrijednosti 7 - 9, a potpuna deprotonacija je prisutna pri $\text{pH} > 9$. Zbog toga je iznimno važno određivati naboj membrane pri različitim pH vrijednostima kako bi se odredila kiselo-bazna svojstva površine membrane [19].

2.3. Mikroonečišćivala

Mikroonečišćivala predstavljaju nisku koncentraciju onečišćivala prisutna u okolišu koja zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava predstavljaju potencijalnu opasnost za okoliš i ljudsko zdravlje. Nazivaju ih još i otpornim organskim zagađivalima ili novim zagađivalima. Svijest o njihovoj opasnosti počela se buditi tek unatrag nekoliko desetljeća [20].

U tu vrstu novih organskih zagađivala ubrajaju se [1, 21]:

- sredstva za osobnu higijenu, PCPs,
- farmaceutski aktivne komponente, tj. farmaceutici, PhACs,
- endokrini lijekovi, EDCs,
- pesticidi,
- industrijski aditivi,
- plastifikatori i
- bojila.

Nužno je definirati njihove maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) s obzirom na njihove koncentracije i ponašanje u okolišu, kao i stalne emisije u okoliš. Osim toga potrebno je razviti posebne metode procjene rizika na okoliš prije same emisije [21].

2.3.1. Farmaceutici

Najveću skupinu mikroonečišćivala čine farmaceutski aktivne komponente. Danas se proizvodi i koristi širok raspon lijekova, od kontracepcijskih sredstava, preko antibiotika do analgetika te drugih lijekova. Sve se više koriste lijekovi i u veterinarstvu, akvakulturi i

poljoprivredi, kao što su antibiotici, hormoni, antistetici, antifungalna sredstva i antiparaziticidi [2].

Većina spojeva ispušta se u okoliš kontinuirano putem kanalizacijskog sustava industrija i domaćinstava. Navedeni spojevi su prvenstveno i najčešće izloženi metabolizmu korisnika, nakon čega su izlučeni metaboliti i nepromijenjeni izvorni spojevi izloženi daljnjim promjenama prilikom klasične obrade otpadnih kanalizacijskih voda. Mnogi od njih "prežive" biološku razgradnju te kao takvi završavaju u prihvatnim vodama. Osim toga njih i njihove metabolite nalazimo posvuda u okolišu, osobito u površinskim vodama i vrlo su otporni na sve utjecaje iz okoliša. Uočeno je da lijekovi u okolišu, u koncentracijama manjim od granične toksičnosti za ljude, mogu imati i neželjene učinke na životinje i mikroorganizme [1].

Najveći problem predstavljaju upravo lijekovi koji se koriste u humanoj i veterinarskoj praksi, a to su [1]:

- protuupalni lijekovi – protiv upalnih procesa, artritisa (Ibuprofen, Diklofenak, Naproksen)
- antibiotici – antimikrobni agensi (Penicilin, Azitromicin, Amoksicilin)
- hipolipemici – protiv visoke koncentracije kolesterola u krvi (Bezafibrat, Klofibrinska kiselina, Atorvastatin)
- β -blokatori – protiv visokog tlaka, angine pectoris, srčanih bolesti (Atenolol, Betaksolol, Propranolol)
- psihijatrijski lijekovi, lijekovi za liječenje ulkusa, antidiabetici, diuretici, kemoterapeutici.

Antibiotici zbog svoje biološke aktivnosti predstavljaju specifičnu klasu novih onečišćivala. Njihova stalna prisutnost u vodi uzrokuje otpornost mikroorganizama, ali može uzrokovati i probleme u radu bioloških uređaja za pročišćavanje. Zbog nepovoljnog utjecaja na zdravlje ljudi i okoliš, potrebno je obraditi i ukloniti takve biološki teško razgradive spojeve. Konvencionalni postupci obrade voda (poput koagulacije, flokulacije, taloženja, filtracije, ionske izmjene i adsorpcije) nisu dovoljno učinkoviti za uklanjanje novih onečišćivala pa se u tu svrhu koriste napredni postupci kao što su membranski procesi, adsorpcija na aktivnom ugljiku i oksidacijski procesi [1].

2.3.2. Uklanjanje farmaceutika s RO/NF membranama

Reverzna osmoza i nanofiltracija pokazale su se kao veoma učinkovite metode za uklanjanje mikroonečišćivala pa i farmaceutika prisutnih u otpadnim vodama, za razliku od konvencionalnih metoda obrade, oksidacijskih procesa i adsorpcije na aktivnom ugljenu.

Comerton i sur. [12] ispitivali su zadržavanje EDCs i PhAC iz sirove vode i vode iz jezera Ontario filtrirane s 5 µm filtrom, efluenta iz membranskog bioreaktora i laboratorijske MilliQ vode. Istraživanje je provedeno s rahlom i gustom NF i RO membranom. Dobiveno je da RO (X20) membrana pruža dobro zadržavanje ($> 90 \%$) EDCs-a i PhAC-a iz svih voda. Obratno rahla NF (NF270) pruža slabo i promjenjivo zadržavanje ($R_f < 30 \%$) što pokazuje da su pore membrane relativno veće od veličine komponente. U radu je navedeno da onečišćenje i prisutnost organskih tvari doprinose većem zadržavanju EDCs-a i PhAC-a, dok veće koncentracije divalentnih iona doprinose njihovom nižem zadržavanju.

Nonilfenol (NP), tertbutilfenol (TBP), bisfenol A (BPA) i druge istraživane tvari sadrže hidroksilnu ili karboksilnu grupu i zbog toga su pogodne za stvaranje vodikove veze s prikladnim supstratom (u ovom slučaju membranom), ali i s drugim otopljenim tvarima u otpadnoj vodi i zbog toga potiču adsorpciju. Navedene komponente su niskih molekulskih masa i srednjeg do visokog $\log K_{O/W}$. To upućuje na adsorpciju na hidrofobni materijal kao što je membranska površina. Nghiem i sur. [22] ispitivali su mehanizme zadržavanja tih organskih komponenata nanofiltracijskim membranama različitih veličina pora (NF90 i NF270). Učinkovitost uklanjanja ispitivana je promjenom parametara kao što je pH vrijednost, ionska jakost otopine i prisutnost prirodne organske tvari. Rezultati u ovom radu govore da membrana može poslužiti kao veliko sakupljalište EDCs-a i njihovo ispuštanje je vjerojatno tijekom čišćenja membrana i mijenjanja pH vrijednosti. Zaključili su da pH vrijednost, za razliku od ionske jakosti otopine, utječe na zadržavanje onečišćivala kod uklanjanja s rahlom NF membranom. No, ukoliko je prisutna organska tvar ionska jakost otopine ima utjecaj na uklanjanje zbog interakcija između otopljenih tvari te između membrane i otopine što rezultira boljim zadržavanjem onečišćivala.

U sljedećem radu Nghiem i sur. [7] istraživali su ulogu elektrostatskih interakcija na uklanjanje farmaceutika s rahlom TFC–SR2 nanofiltracijskom membranom koja je relativno hidrofilna, ima negativni naboj i ima relativno otvorene pore s prosječnim radijusom pora 0,64 nm. Dobiveni rezultati prikazuju da je zadržavanje neioniziranog farmaceutika karbamazepina relativno neovisno o kemiji otopine, dok zadržavanje ioniziranih farmaceutika, sulfametoksazola i ibuprofena, jako ovisi o pH otopine i ionskoj jakosti.

Zadržavanje farmaceutika raste drastično kako se tvar transformira iz neutralne u negativno nabijenu česticu s porastom pH otopine iznad pK_a vrijednosti. Suprotno tome, ionska jakost otopine potiskuje dvosloj ili Debyejevu duljinu i zbog toga smanjuje efektivnost elektrostatskih interakcija kao glavnog mehanizma zadržavanja s rahlom NF membranom. Međutim, takvo smanjenje je relativno malo zadržavanje negativno nabijenog sulfametoksazola i ibuprofena s rahlom nanofiltracijskom membranom ostaje dosta visoko (50 – 85 %).

Verliefde i sur. [13] istraživali su s dvije različite NF membrane (Desal HL i Trisep TS80) zadržavanje pozitivno i negativno nabijenih i neutralnih farmaceutika pri različitim svojstvima ulazne vode (različite ionske jakosti i pH, s i bez prisutnosti NOM-a i divalentnih kationa). Zadržavanje svih farmaceutika bilo je relativno visoko (≥ 75 %) za obje membrane. U radu je dokazano da je zadržavanje pozitivno nabijenih (baznih) farmaceutika manje od zadržavanja neutralnih farmaceutika, a koje je niže od zadržavanja negativno nabijenih (kiselih) farmaceutika. To se može objasniti s elektrostatskim interakcijama otopljene tvari i membranske površine. Za negativno nabijene otopljene tvari, odbijanje s nabojem postoji između otopljene tvari i negativno nabijene površine membrane, dok za neutralne otopljene tvari, nema interakcija naboja s površinom membrane, ali za pozitivno nabijene otopljene tvari naboj promovira odbijanje naboja. To uzrokuje porast koncentracije pozitivno nabijenih otopljenih tvari na površini membrane u usporedbi s otopinom u masi (otopljene tvari su privučene prema suprotnom naboju membrane), što rezultira nižim zadržavanjem. Za negativno nabijene otopljene tvari je suprotno: odbijanje naboja rezultira nižom koncentracijom negativno nabijenih otopljenih tvari na površini membrane, a time i većim zadržavanjem. Taj koncept može se zvati koncentracijska polarizacija naboja.

Određivanje faktora zadržavanja određenih veterinarskih antibiotika iz modelnih voda radili su Košutić i sur. [23]. Ispitivane membrane bile su RO (XLE, TFC-S i HR95) i NF (NF90), a antibiotici sulfagvanidin, sulfadiazin, sulfametazin, trimetoprim, prazikvantel, enrofloxacin i oksitettraciklin. Rezultati su pokazali da različite RO (XLE, HR95 i TFC-S) i gusta NF (NF90) membrana efektivno uklanjaju navedene antibiotike. Dobiven je relativno visok postotak zadržavanja (> 98 %). NF membrana rahlje strukture pokazuje odlične separacijske rezultate za molekule s većom molekulskom masom, no lošije je zadržavala manje molekule antibiotika (> 65 %). Budući da VRP krivulje u radu pokazuju da se veličine pora nalaze u

području od 0,6 do 1,5 nm za korištene membrane, glavni mehanizam separacije je mehanizam temeljen na razlici veličina čestica i veličina pora.

Dolar i sur. [24] ispitivali su uklanjanje antihelmintika – levamisola (LEV), albendazola (ABZ), prazikvantela (PZQ), febantela (FEBA) i njihovih fotorazgradnih produkata iz vode RO i NF membranama. Izvedena je simulacija fotorazgradnje u laboratorijskim uvjetima s UV lampom pri valnoj duljini od 254 nm tijekom 4 h. Ispitane RO (LFC-1 i XLE) i gusta NF (NF90) membrana pokazale su dobro uklanjanje (> 83 %) antihelmintika iz binarnih otopina te iz smjese. Kod ostalih NF (NF270, NF i DK) membrana rezultati su pokazali relativno visok postotak zadržavanja PZQ i FEBA (> 90 %), no za manje lijekove (LEV i ABZ) zadržavanje se kretalo između 22 i 45 %. Ovi rezultati pokazuju da je glavni mehanizam separacije u binarnim otopinama bio isključenje veličinom, dok je u smjesi prisutan i utjecaj fizikalno-kemijskih interakcija. Nakon UV tretmana antihelmintici su degradirani u nekoliko fotorazgradnih produkata (5 za LEV, 2 za ABZ, 1 za PZQ i 8 za FEBA). Reverzno osmotske i NF90 membrana uklonile su > 95 % svih razgradnih produkata (osim FEBA1 oko 70 %), a ostale NF membrane između 33 i 99,99 %.



3. EKSPERIMENTALNI DIO

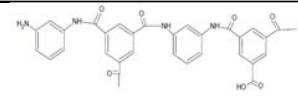
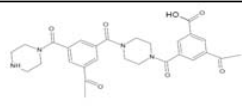
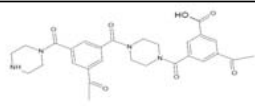


3.1. Materijali

3.1.1. Membrane

U eksperimentu su korištene tri komercijalno dostupne poliamidne RO/NF membrane dobavljene od proizvođača Dow-Filmtec (SAD). RO membrana ispitana u ovom radu je XLE (eng. *Extra Low Energy*) na bazi poliamida, te NF membrane NF i NF270 na bazi polipiperazinskog amida. U tablici 3.1 prikazane su karakteristike membrana definirane od strane proizvođača. MWCO za RO XLE membranu iznosi 100 Da, a za NF i NF270 membrane 150 - 300 Da.

Tablica 3.1. Nazivna svojstva ispitivanih komercijalnih membrana.

Svojstvo	XLE	NF	NF270
Kemijska struktura poliamidnog sloja			
Radni tlak, p (bar)	8,6	8,9	4,8
Maksimalni radni tlak, p (bar)	41,0	41,0	41,0
Maksimalna radna temperatura, T (°C)	45,0	45,0	45,0
Dozvoljena pH vrijednost (I)	2 - 11	3 - 10	2 - 11
Faktor zadržavanja, R_f (I)	0,99 ^a	> 0,98 ^b	> 0,97 ^b
Protok permeata, J (L/m² h¹)	53,9	63,0	51,3

^a- $c(\text{NaCl}) = 2000 \text{ mg/L}$, $p = 8.6 \text{ bar}$; $T = 25 \text{ °C}$; ^b-. $c(\text{MgSO}_4) = 2000 \text{ mg/L}$, $p = 4,8 \text{ bar}$, $T = 25 \text{ °C}$

3.1.2. Farmaceutici

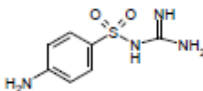
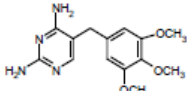

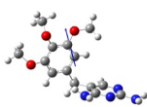
Farmaceutici korišteni u eksperimentu su veterinarski farmaceutici dobiveni od Veterine (Kalinovica, Hrvatska). Tablica 3.2. prikazuje listu odabranih farmaceutika redoslijedom kako su ispitivani: sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon i albendazol. U tablicama 3.3. i 3.4. navedena su njihova fizikalno-kemijska svojstva. Modelne otopine koncentracije $c = 10 \text{ mg/L}$ priređene su otapanjem komponenata u ultra čistoj vodi. Pomoću otopina ($c = 0,1 \text{ mol/dm}^3$) natrijevog hidroksida (NaOH) i klorovodične kiseline (HCl) pH modelnih otopina podešen je na 10. Generalno je prihvaćeno pravilo da su komponente hidrofobne ukoliko je $\log K_{O/W} > 2,5$, a hidrofilne ukoliko je $\log K_{O/W} < 2,5$.

Tablica 3.2. Lista odabranih farmaceutika.

Farmaceutik	IUPAC* ime	Grupa farmaceutika	CAS No.
Sulfagvanidin (eng. <i>sulfaguanidine</i>)	4-amino-N-(diaminometilen) benzenesulfon amid	antibiotik (sulfonamidni)	57-67-0
Trimetoprim (eng. <i>trimethoprim</i>)	5-(3,4,5-trimetoksibenzil) pirimidin-2,4-diamin	sinergist sulfonamidnih antibiotika	738-70-5
Hidrokortizon (eng. <i>hydrocortisone</i>)	(11 β)-11,17,21-trihidroksipregn-4-an-3,20-dien	kortikosteroid	50-23-7
Albendazol (eng. <i>albendazole</i>)	metil-N-[6-(propilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-2-il] karbamat	antihelminetik	54965-21-8

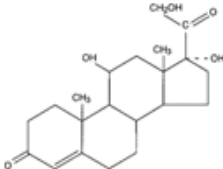
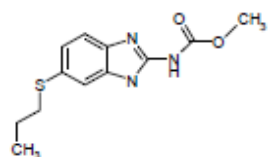
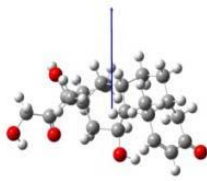
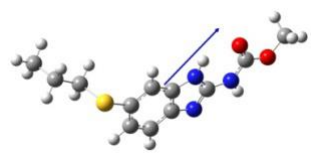
*-eng. *International Union of Pure and Applied Chemistry*

Tablica 3.3. Fizikalno-kemijska svojstva sulfagvanidina i trimetoprima.

	Sulfagvanidin	Trimetoprim
M_w (g/mol)	214,24	290,32
Strukturna formula		
3D strukturna formula		
Veličina molekule (nm)^a	X = 0,454 Y = 0,302 Z = 0,970	X = 0,804 Y = 0,489 Z = 1,138
log K_{O/w}	-1,22	0,91
log D (pH=7,4)^b	-0,83	0,67
pK_a	11,25	7,12
Dipolni moment, μ (D)^c	2,68; 4,32	3,40

^a određeno pomoću programa HyperChem 8.0^b www.chemspider.com [25]^c određeno pomoću Gaussian [26]

Tablica 3.4. Fizikalno-kemijska svojstva hidrokortizona i albendazola.

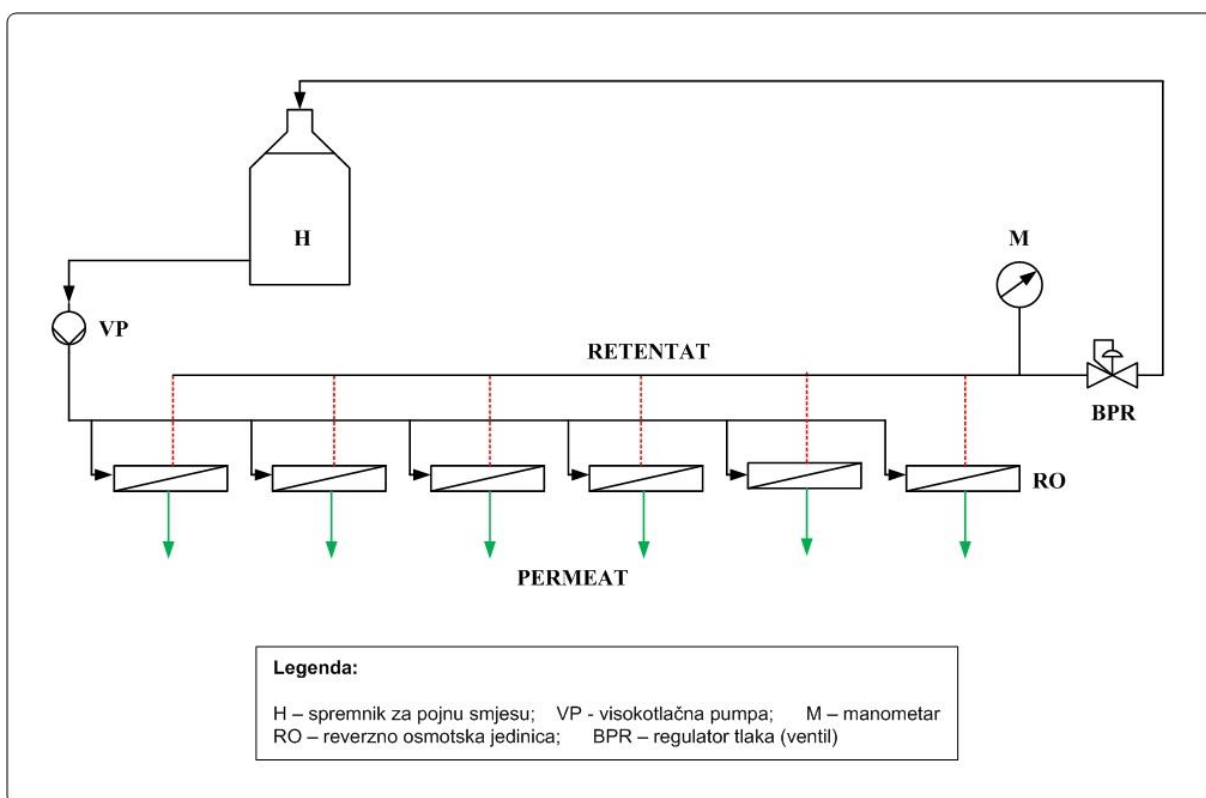
	Hidrokortizon	Albendazol
M_w (g/mol)	362,47	265,33
Strukturna formula		
3D strukturna formula		
Veličina molekule (nm)^a	X = 0,627 Y = 0,456 Z = 1,264	X = 0,482 Y = 0,279 Z = 1,632
log K_{O/W}	1,61	3,07
log D (pH=7,4)^b	1,43	3,06
pK_a	12,58	6,90
Dipolni moment, μ (D)^c	5,90; 4,14	4,33

^a određeno pomoću programa HyperChem 8.0^b www.chemspider.com [25]^c određeno pomoću Gaussian [26]

3.2. Uređaji za mjerenje

3.2.1. Laboratorijski RO/NF uređaj

Tijekom provede eksperimenta korišten je laboratorijski membranski uređaj baziran na principu filter preše u kojem je paralelno spojeno šest RO/NF jedinica. Unutar okvira od nehrđajućeg čelika pričvršćene su ravne membrane. Iz spremnika se visokotlačnom pumpom potiskuje pojna smjesa modelne otopine farmaceutika i kontinuirano se uvodi u jedinice aksijalno preko površine membrana uz stalni prolaz permeata (gotovo čiste vode) kroz membrane. Laboratorijski RO/NF uređaj prikazan je na slici 3.1.



Slika 3.1. Shema laboratorijskog reverzno osmotskog uređaja.

3.2.2. Ostali uređaji za mjerenje

3.2.2.1. Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala

Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala (FTIR uređaj) korišten u ovom radu je *Vertex 70 (Bruker Corporation, globalna kompanija)*. Opremljen je s MIR (eng. *Middle-InfraRed*) izvorom svjetla koji emitira zraku svjetlosti u srednjem infracrvenom području od 370 do 7500 cm^{-1} . Snimao se FTIR spektar kako bi se utvrdile moguće interakcije odabranih farmaceutika i membrana. FTIR spektri snimani su na $\lambda = 400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$. Prije snimanja FTIR spektra uzoraka membrane površine ($\approx 0,5 \times 0,5 \text{ cm}$) snimao se pozadinski spektar, tj. snimao se zrak kako bi se izbjegle pogreške u mjerenju.

3.2.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti izvedena je upotrebom *Varian ProStar 500 (Walnut Creek, Kalifornija, SAD)* sustava koji se sastoji od ProStar 330 UV-Vid detektora s nizom dioda (DAD, eng. *Diode Array Detector*), ProStar 230 tercijarne pumpe, ProStar 410 uređaj za automatsko doziranje uzorka, ProStar 500 termostatisanog držača kolone i odabrane kolone InterSustainTM 250 x 4,6 mm, 5 μm (*GLSciences, Tokio, Japan*). Analizirani su uzorci farmaceutika u permeatu i pojnoj smjesi. Odabrana kolona predstavlja stacionarnu fazu, a mobilna faza bila je binarna smjesa otapala A (0,01 % mravlje kiseline u MilliQ vodi) i otapala B (0,01 % mravlje kiseline u acetonitrilu) uz gradijentnu separaciju. Odabrani protok pokretne faze bio je 0,5 mL/min. Svaki uzorak injektiran je dva puta po 30 μL ($\gamma = 10 \text{ mg/L}$), a nakon analize kolona se ispirala otopinom acetonitrila ($w = 65 \%$) pri protoku pokretne faze od 0,5 mL/min. Valne duljine pri kojima su snimani kromatogrami odabranih farmaceutika su 210 (albendazol i trimetoprim), 254 (hidrokortizon) i 285 (sulfagvanidin) nm.

3.2.2.1. Goniometar

Uređajem goniometrom DataPhysics OCA 20 (Njemačka) mjerena je hidrofobnost/hidrofilnost površine odabranih membrana. U vremenu od 5 min mjereno je kontaktni kut ($t = 0, 30, 60, 120, 180, 240, 300 \text{ s}$) i korištena je metoda kapi uz sljedeće

uvjete: volumen kapljice vode bio je $2 \mu\text{L}$ i $T = 25,0 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Za izračunavanje slobodne energije površine membrane kontaktni kut se računao prema Young-Dupréovoj jednadžbi.

3.2.2.4. Elektrokinetički analizator

Pomoću uređaja elektrokinetičkog analizatora *Anton Paar EKA*, eng. *Electro Kinetic Analyzer* (Austrija) određivan je naboj membranske površine, tj. zeta potencijal (ζ) mjerenjem potencijala strujanja u rasponu od 0 mV do 2000 mV. Uzorci membrana smješteni su u ćeliju (na razmaku od $5 \mu\text{m}$) jedan nasuprot drugom, na način da je poliamidna površina izložena elektrolitu kalcijevom kloridu, KCl ($c = 0,01 \text{ mol/L}$). Pomoću titrivala HCl, ($c = 0,1 \text{ mol/L}$) se automatski podešava pH elektrolita u rasponu od 0 do 14. Izračun zeta potencijala uzorka bazirao se na Helmholtz-Schmouwsky jednadžbi.

3.3. Postupak i uvjeti rada na laboratorijskom RO/NF uređaju

Prije provedbe samog procesa separacije aparatura je isprana s otopinom etanola ($w = 50 \%$) i vodom ($p = 10 \text{ bar}$) kako bi se uklonila moguća onečišćenja uređaja. Pripremljene su binarne otopine 5 farmaceutika početne koncentracije 10 mg/L otapanjem komponenata u MilliQ vodi. Zatim je podešena pH vrijednost otopina farmaceutika na 10. Mjerenje pH vrijednosti provodilo se pomoću pH metra *Schott CH 842* (Njemačka).

Membrane su izrezane na odgovarajuće dimenzije ($A = 11,0 \text{ cm}^2$) i smještene u membranske jedinice. Za svaki farmaceutik korištene su nove membrane. Postupak se provodio pri radnom tlaku 10 bar i $T = 25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Postupak rada na laboratorijskom RO/NF uređaju možemo podijeliti u dva dijela: predobrada (dekonzerviranje) membrana i testiranje membrana s modelnim otopinama farmaceutika.

3.3.1. Predobrada

1. Nakon postavljanja u reverzno osmotske jedinice, membrane su ispirane s oko 30 L demineralizirane vode radi uklanjanja konzervansa.
2. Napravljena je tlačna obrada membrana pri 15 bar u trajanju od 3 sata s ciljem stabilizacije protoka membrana. Svakih 30 minuta uzimali su se uzorci vode za

praćenje protoka. Uzorci permeata vagali su se na analitičkoj vagi *KERN ALS 220-4* (Njemačka).

3.3.2. Ispitivanje zadržavanja modelnih otopina farmaceutika

1. Nakon predobrade demineralizirana voda recirkulirala je na radnom tlaku ($p = 10$ bar) 30 minuta.
2. Slijedila je recirkulacija otopine NaCl koncentracije 500 mg/L i pH vrijednosti podešene na 10, u trajanju od 30 minuta pri 10 bar, nakon čega su uzeti uzorci ulazne otopine i permeata za praćenje protoka te im je mjerena vodljivost.
3. Nakon toga membrane su dva i pol sata ispirane demineraliziranom vodom pri 10 bar, prilikom čega su se svakih 30 minuta uzimali uzorci vode za praćenje protoka.
4. Potom je ispitano zadržavanje modelnih otopina farmaceutika u trajanju od 5 h pod radnim tlakom od 10 bar. Svakih sat vremena pratio se protok i uzimali su se uzorci za određivanje zadržavanja analizom na HPLC kromatografskom sustavu.
5. Po završetku rada, membrane su isprane s oko 30 L demineralizirane vode pod radnim tlakom (10 bar). Izvadile su se iz RO jedinica i sušile u sušioniku na temperaturi od 40 °C tijekom 15 sati.
6. Osušeni uzorci membrana korišteni su za daljnju analizu: određivanje zeta potencijala, kontaktnog kuta i strukturalnu analizu membranske površine pomoću FTIR-a.



4. REZULTATI I RASPRAVA



Ispitivanja u ovom radu bila su usmjerena na određivanje učinkovitosti i mehanizma uklanjanja odabranih farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon i albendazol) RO/NF membranama (XLE, NF, NF270) iz ultra čiste vode u lužnatim uvjetima. Mehanizam separacije određivao se usporedbom veličine molekula i veličine pora, te naboja farmaceutika i membrana. Svi farmaceutici imali su relativno sličnu molekulsku masu. Fizikalno-kemijska svojstva membranske površine određivana su praćenjem promjena kontaktnog kuta i zeta potencijala. Kako bi se utvrdile interakcije između odabranih farmaceutika i membrana provedena je FTIR analiza. Prije navedenih analiza provedena je karakterizacija membrana radi boljeg shvaćanja mehanizma separacije.

4.1. Karakterizacija membrana

Fizikalno-kemijske karakteristike odabranih membrana određene su u radu Drašinac [27]. Prije svega membrane su ispitane s anorganskom soli NaCl, kako bi se odredila njihova nazivna svojstva. Dobiveni faktori zadržavanja soli i pripadajući protoci prikazani su u tablici 4.1.

Tablica 4.1. Faktori zadržavanja i protoci anorganskih soli za RO/NF membrane.

Anorganska sol	Membrana i broj ćelije					
NaCl	XLE-1	NF-2	NF270-3	NF270-4	NF-5	XLE-6
$J \text{ (L/(m}^2\text{h))}^a$ (S.D.)	87,93 (2,96)	81,03 (8,95)	151,15 (10,28)	161,64 (17,14)	84,89 (17,19)	93,09 (2,45)
$R_f \text{ (%) }^b$ (S.D.)	89,52 (4,15)	76,56 (6,51)	20,47 (4,77)	26,72 (4,67)	18,83 (8,81)	91,66 (3,26)

^{a,b} eksperimentalno određeno u ovom radu

Vidljivo je puno veće zadržavanje za RO XLE membranu u usporedbi s NF i NF270 membranama. Razlog tome je manja veličina pora kod RO membrana nego kod NF membrana. Dakle RO membrane pokazuju jako dobro uklanjanje monovalentnih iona što je i jedna od njihovih funkcija u desalinaciji. Protok permeata najveći je kod NF270 membrane jer ima najveće pore, dok je kod NF neznatno niži od protoka kroz XLE membranu.

Hidrofobnost površine membrane određivana je mjerenjem kontaktnog kuta. Općenito, što više hidrofilnih funkcionalnih skupina, primjerice hidroksilnih (-OH) i amino (-NH₂), sadrži polimer od kojeg je sazdan površinski aktivni sloj membrane to je njegova površina hidrofilnija. Kada su vrijednosti izmjerenih relativnih kontaktnih kutova manje od 90° membrana se smatra hidrofilnom, no ukoliko su veće od 90° membrana se smatra hidrofobnom. U tablici 4.2. prikazani su rezultati mjerenja kontaktnog kuta i zeta potencijala. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da su površine XLE i NF membrane hidrofilne (kontaktni kut ispod 90°). Međutim, prema nekim autorima [28] NF270 membranu možemo smatrati kao relativno hidrofobnu jer je njen kontaktni kut veći od 60°.

Tablica 4.2. Vrijednosti kontaktnog kuta i zeta potencijala za XLE, NF i NF270 membrane.

	Membrana		
	XLE	NF	NF270
Kontaktni kut (°)^a	59,59 (3,22)	53,80 (5,01)	73,16 (5,72)
Zeta potencijal pH 10 (mV)^b	-9,31	-2,19	-3,07

^{a,b} određeno u radu Drašinac [29]

Naboj membranske površine izražava se terminima zeta potencijala, ξ (mV) i izoelektrične točke, IET. Membranska površina pokazuje amfoteran karakter (kisela i bazna svojstva), zbog čega je nužno provoditi mjerenja u širokom spektru pH vrijednosti. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da su površine svih membrana negativno nabijene. Negativna nabijenost membrana smanjuje se prema nizu: XLE, NF270, NF.

4.2. Zadržavanje odabranih farmaceutika

Farmaceutici su odabrani na temelju svojih različitih fizikalno-kemijskih svojstava kako bi se dobio što bolji uvid u zadržavanje i interakcije između odabranih farmaceutika i membrana. Efikasnost membrana praćena je tijekom provedbe procesa, u vremenskom periodu od 5 sati. Svakih sat vremena uzimani su uzorci permeata i ulazne otopine te su određivani faktori zadržavanja pojedinih farmaceutika.

Koeficijent zadržavanja ili retencije (R_f) računao se prema jednadžbi [1]:

$$R_f = \frac{c_f - c_p}{c_f} = 1 - \frac{c_p}{c_f} \quad (1)$$

gdje je c_f koncentracija tvari u pojnoj smjesi, a c_p koncentracija tvari u permeatu. Membrana se smatra dobrom ukoliko uz visok protok po jediničnoj površini (membranski protok) pokazuje i zadovoljavajući koeficijent zadržavanja. Koeficijent zadržavanja je bezdimenzijski parametar pa je njegova vrijednost ≤ 1 , tj. 100 % i ne ovisi o jedinici kojom je koncentracija tvari u otopini izražena.

Tablica 4.3. prikazuje R_f (%) ispitivanih membrana u vremenu $t = 0$ h za sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon i albendazol. Pripadajući protoci, J (L/(m²h)) prikazani su u tablici 4.4.

Tablica 4.3. Koeficijent zadržavanja farmaceutika XLE, NF, i NF270 membranama u vremenu $t = 0$ h.

Farmaceutik	R (%)					
	XLE-1	NF-2	NF270-3	NF270-4	NF-5	XLE-6
Sulfagvanidin	92,02	44,10	5,51	11,45	-	93,88
Trimetoprim	94,06	92,78	51,05	82,88	78,11	93,43
Hidrokortizon	94,03	97,43	68,50	50,65	62,99	96,18
Albendazol	> 99,99	94,81	87,02	84,09	86,37	> 99,99

Tablica 4.4. Protok permeata farmaceutika u vremenu $t = 0$ h.

Farmaceutik	J (L/(m ² h))					
	XLE-1	NF-2	NF270-3	NF270-4	NF-5	XLE-6
Sulfagvanidin	91,47	79,97	168,42	166,45	82,64	95,30
Trimetoprim	85,89	74,06	128,15	131,98	74,17	89,84
Hidrokortizon	89,20	76,33	135,84	147,24	84,80	93,49
Albendazol	92,14	86,48	151,12	165,87	110,21	90,14

Iz tablice 4.3. vidljivo je da XLE membrana ima najbolje zadržavanje svih farmaceutika koje iznosi od 92,02 do >99,99 %. Obzirom da je XLE reverzno osmotska membrana i ima najmanju veličinu pora, takvo zadržavanje komponenata je logično [29]. Učinkovitost uklanjanja farmaceutika XLE membranama relativno je konstantna. Najbolja je za albendazol, te iznosi >99,99 %. Nešto slabije zadržavanje (od 6,46 do 97,43 %) vidljivo je kod NF membrane koja najbolje zadržava hidrokortizon, a najlošije sulfagvanidin. Najslabije uklanjanje sulfagvanidina u odnosu na ostale farmaceutike pokazuje i NF270 membrana. Razlog može biti u tome što je sulfagvanidin najmanja molekula te joj je molekulska masa manja od MWCO i omogućava prolazak kroz pore membrane. Zadržavanje farmaceutika s NF270 membranama iznosi od 5,51 do 87,02 %. Najveću učinkovitost uklanjanja pokazuju kod albendazola.

Općenito je uočeno da zadržavanje farmaceutika s XLE membranom raste s povećanjem hidrofobnosti odabranih farmaceutika, dok je suprotno uočeno za NF i NF270 membrane. Detaljne analize prikazat će se u daljnjim poglavljima uklanjanje farmaceutika tijekom svakog sata uzorkovanja.

4.2.1. Uklanjanje sulfagvanidina RO/NF membranama

Kao što je već spomenuto sulfagvanidin je najhidrofilnija molekula od svih ispitivanih farmaceutika s obzirom da je $\log K_{O/W}$ vrijednost najmanja i iznosi -1,22. On ujedno ima i najmanju molekulsku masu ($M_w = 214,24$ g/mol) prema čemu se može pretpostaviti da ima i najmanje zadržavanje. To su potvrdili i dobiveni rezultati u ovome radu, koji odgovaraju rezultatima dobivenim od strane Košutića i sur. [23]. U tablici 4.5. prikazani su koeficijenti zadržavanja sulfagvanidina u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana.

Tablica 4.5. Koeficijenti zadržavanja sulfagvanidina XLE, NF, i NF270 membranama u ovisnosti o vremenu.

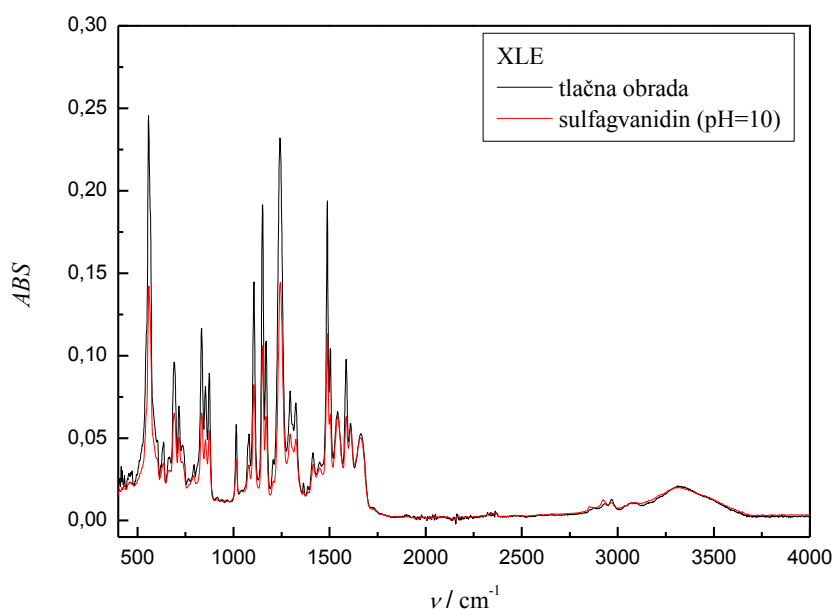
t, h	Membrana i broj ćelije				
	XLE-1	NF-2	NF270-3	NF270-4	XLE-6
0	92,02	44,10	5,51	11,45	93,88
1	92,11	39,78	3,42	9,58	94,33
2	92,50	38,86	3,19	9,84	95,14
3	92,69	37,17	5,17	10,17	95,52
4	97,85	37,95	3,84	8,59	95,49
5	93,22	38,83	3,00	7,33	94,15

Najbolje uklanjanje sulfagvanidina imaju XLE membrane (od 92,02 do 97,85 %). Zadržavanje sulfagvanidina s NF i NF270 membranama puno je manje nego kod XLE membrana (za NF membranu od 37,17 do 44,10 %, a za NF270 od 3,00 do 11,45 %). MWCO od XLE membrane je 100 Da što je manje od M_w sulfagvanidina. Prema literaturi [30] MWCO od NF membrane je 200 Da, a od NF270 membrane iznosi 150 - 300 Da. Molekula sulfagvanidina je pozitivno nabijena ($pH < pK_a$), a XLE membrana ima negativni naboj koji iznosi -9,31 mV. To je slučaj i kod NF membrane čiji negativni naboj iznosi -2,19 mV, te kod NF270 membrane s nabojem -3,07 mV. Zbog toga je vjerojatno prisutno i elektrostatsko

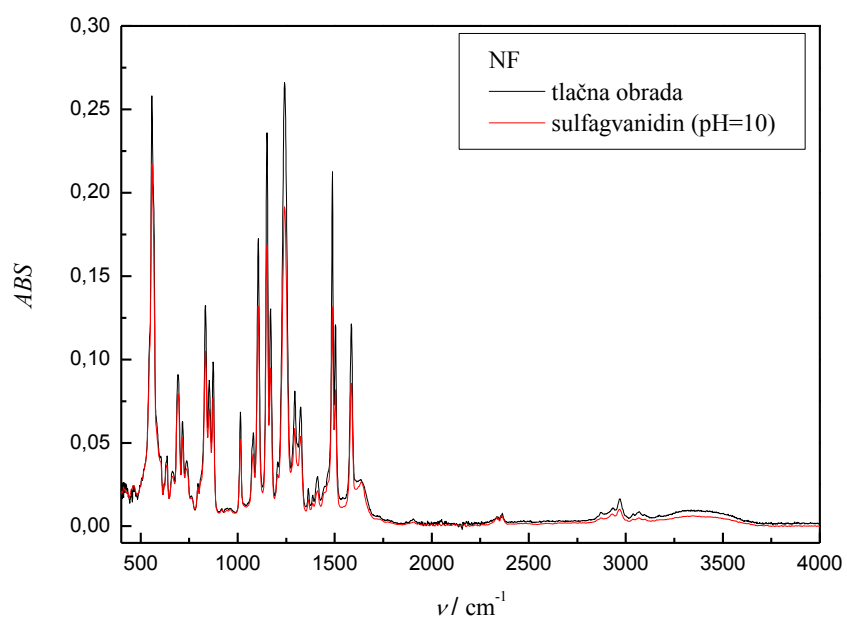
privlačenje između sulfagvanidina i membranske površine, koje je najizraženije za XLE membranu. S obzirom na dobivene rezultate i karakteristike membrana možemo zaključiti da je za uklanjanje sulfagvanidina zaslužan mehanizam prema isključenju veličinom te isključenju nabojem.

S obzirom na pK_a vrijednost od 11,25 pri $pH = 10$ sulfagvanidin je protonirana molekula. Neki autori navode da je za protonirane molekule zadržavanje slabije, bez obzira na $\log K_{O/W}$ [7, 14]. Yoon i sur. [31] navode da potpuno protonirani oblik molekule zadržava svoja hidrofobna/hidrofilna svojstva, pa onda sulfagvanidin kao hidrofilna molekula u svom protoniranom obliku ne bi trebao stupati u interakcije s membranom.

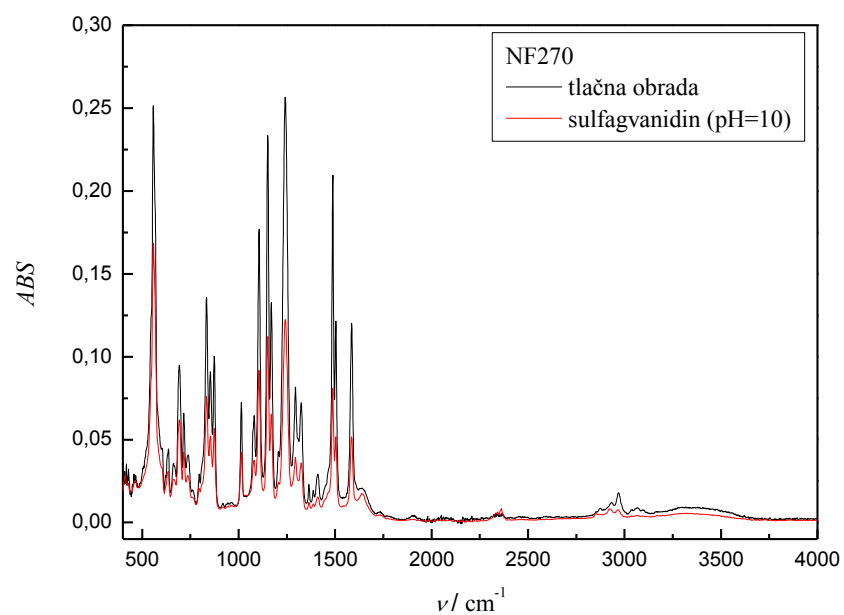
FTIR spektri za XLE, NF i NF270 membrane prije i nakon obrade s otopinom sulfagvanidina prikazani su na slikama 4.1. - 4.3. Uočeno je da nema kemijskih promjena na membranama, što potvrđuje da sulfagvanidin nije stupio u interakciju s njima.



Slika 4.1. FTIR spektri za XLE membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom sulfagvanidina.

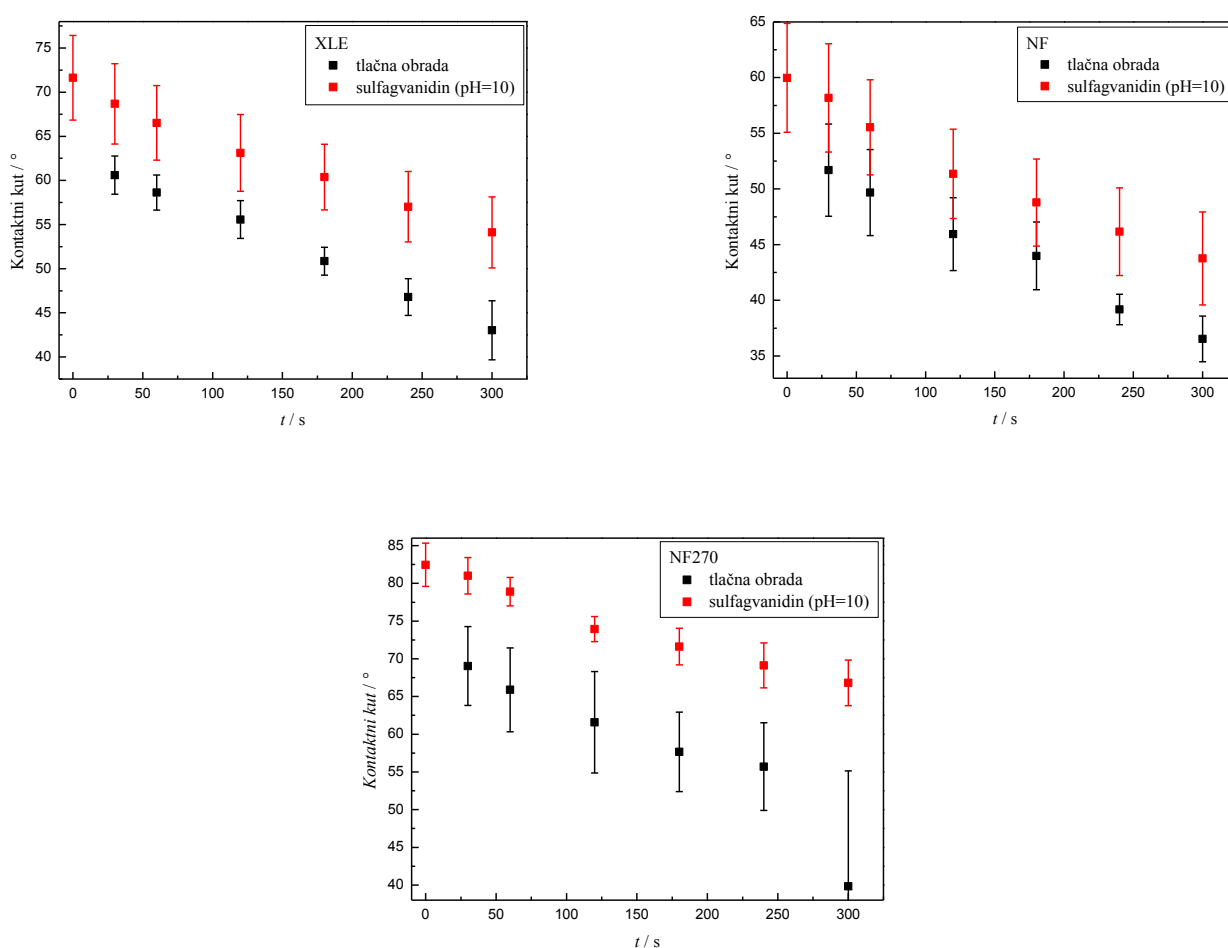


Slika 4.2. FTIR spektri za NF membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom sulfagvanidina.



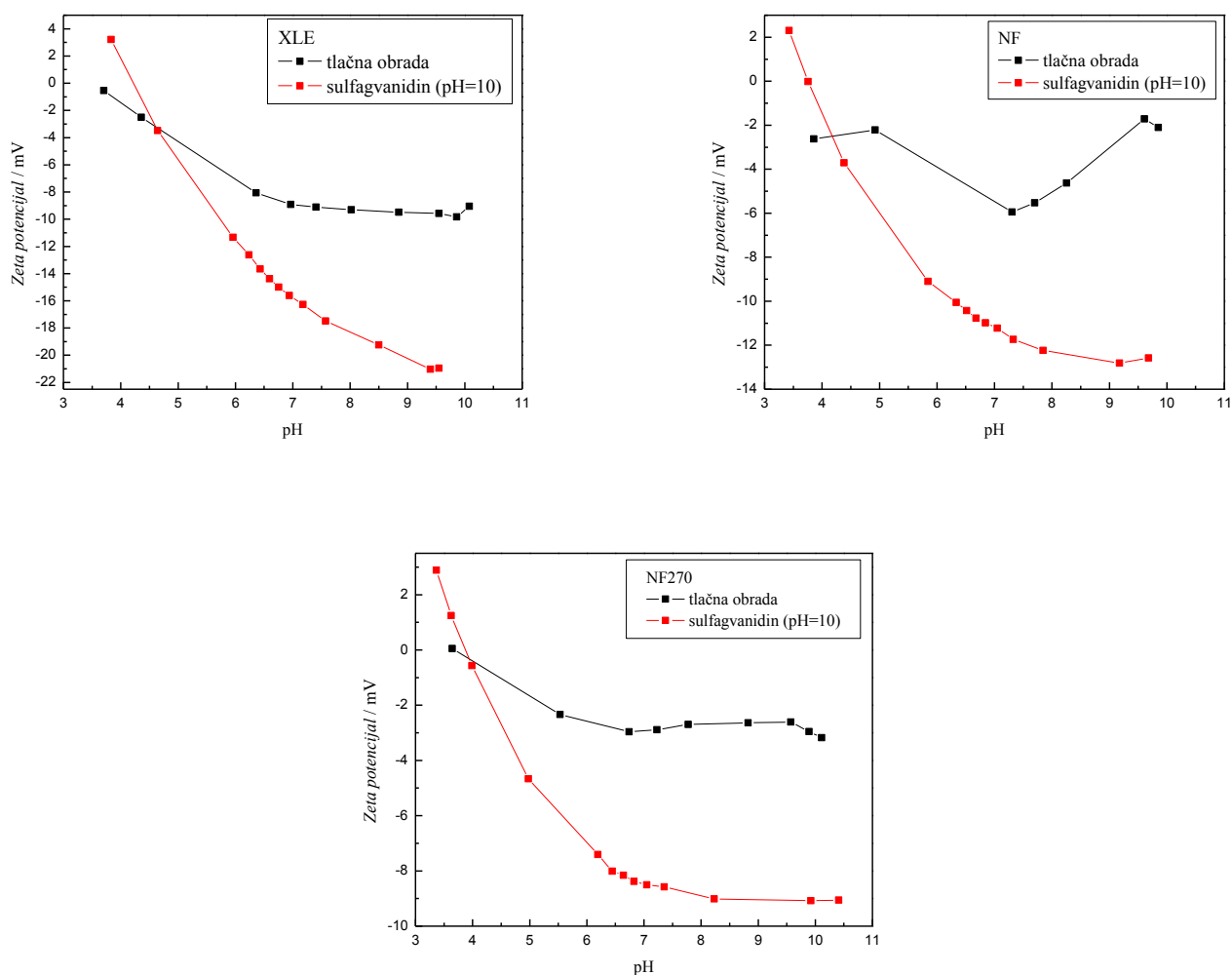
Slika 4.3. FTIR spektri za NF270 membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom sulfagvanidina.

Promjene vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrane prikazane su na slici 4.4. Nakon tretmana s otopinom sulfagvanidina vrijednosti kontaktnog kuta za XLE i NF membrane blago su porasle. Porast vrijednosti kontaktnog kuta od 12° za NF270 membranu pokazuje da je površina postala blago hidrofobnija. S obzirom da je sulfagvanidin hidrofilna molekula, prema dobivenim vrijednostima kontaktnog kuta može se zaključiti da on nije imao znatan utjecaj na promjenu hidrofilnih svojstava membranske površine.



Slika 4.4. Vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrana nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom sulfagvanidina.

Rezultati analize zeta potencijala za sve tri membrane prikazani su na slici 4.5. Negativnije vrijednosti zeta potencijala na višim pH vrijednostima ukazuju na deprotonaciju karbonilnih skupina, što je najizraženije kod XLE membrane, dok pri nižim pH vrijednostima protonacija amidnih i karbonilnih skupina uzrokuje povećanje zeta potencijala. Pad krivulje zeta potencijala na višim pH vrijednostima znači da je membrana postala negativnije nabijena. Za NF i NF270 membrane IET je određena pri pH = 3,9, a za XLE pri pH = 4,2.



Slika 4.5. Zeta potencijal za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom sulfagvanidina.

4.2.2. Uklanjanje trimetoprima RO/NF membranama

Trimetoprim je hidrofilna komponenta ($\log K_{O/W} = 0,91$) s pK_a vrijednosti od 7,12 pa se pri $pH = 10$ nalazi u deprotoniranom obliku. U tablici 4.6. prikazani su koeficijenti zadržavanja trimetoprima u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana.

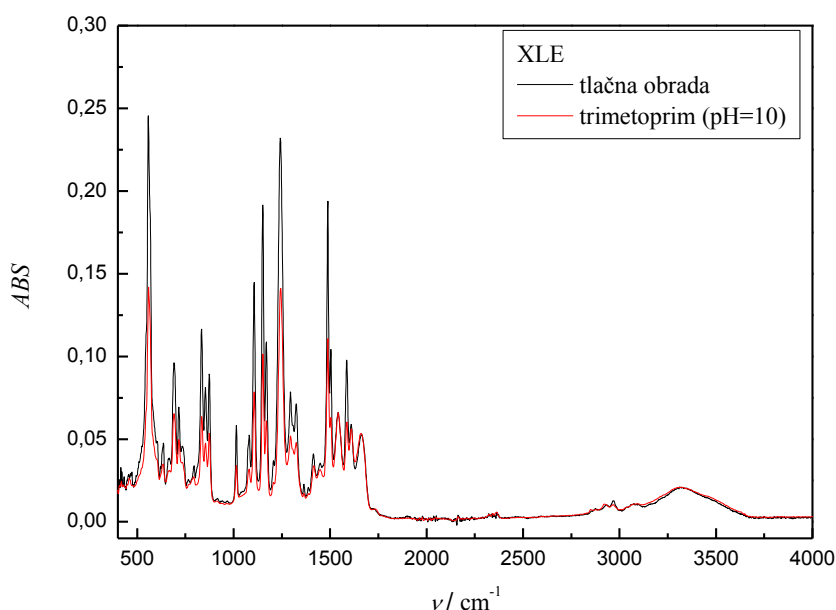
Tablica 4.6. Koeficijenti zadržavanja trimetoprima XLE, NF, i NF270 membranama u ovisnosti o vremenu.

<i>t</i> , h	<i>R</i> (%)					
	XLE-1	NF-2	NF270-3	NF270-4	NF-5	XLE-6
0	94,06	92,78	51,05	82,88	78,11	93,43
1	93,94	96,32	47,94	73,05	80,01	96,93
2	93,09	94,21	24,05	72,35	67,33	95,81
3	92,76	91,79	24,12	66,03	61,36	96,52
4	93,37	89,34	26,02	60,82	64,93	96,74
5	93,96	81,21	29,15	56,52	54,52	96,56

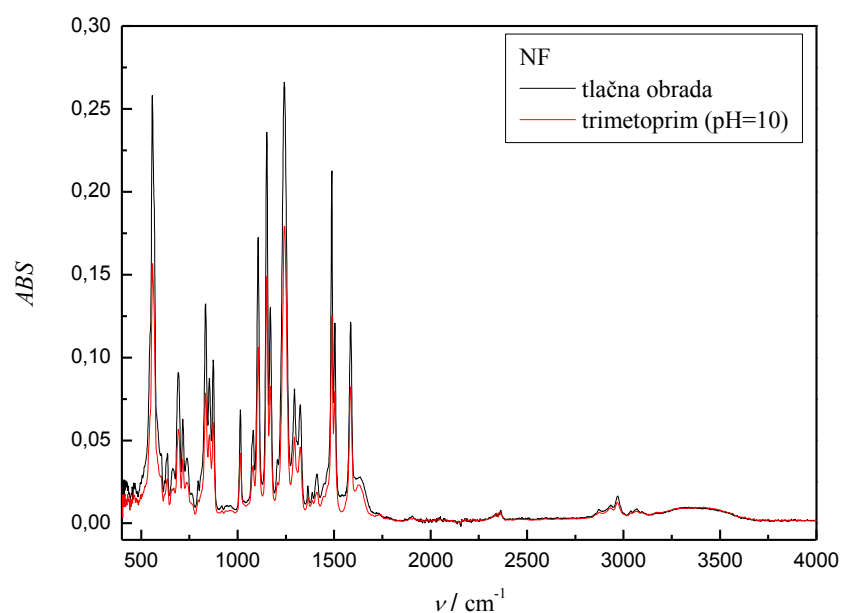
Molekulska masa trimetoprima iznosi 290,32 g/mol što je veće od M_w sulfagvanidina, pa je prema tome i veće zadržavanje. Najbolje uklanjanje trimetoprima imaju XLE membrane (od 92,76 do 96,93 %) koje je ujedno konstantno tijekom 5 h rada. Zadržavanje trimetoprima s NF i NF270 membranama malo je manje nego kod XLE membrana (za NF membranu od 54,52 do 96,32 %, a za NF270 od 24,05 do 82,88 %). Za ispitivane nanofiltracijske membrane može se primijetiti da je faktor zadržavanja značajno pao tijekom 5 h rada. Jedan od razloga za kontinuirani pad faktora zadržavanja je adsorpcija što se ne očekuje s obzirom da je trimetoprim hidrofilna komponenta no Drašinc [27] je dokazala mogućnost interakcija hidrofilnih komponenata s membranama.

Prema dobivenim rezultatima i karakteristikama membrana, zbog velike razlike između vrijednosti MWCO XLE membrane i M_w trimetoprima, može se zaključiti da je dominantan mehanizam uklanjanja trimetoprima isključenje veličinom. Molekula trimetoprima negativno je nabijena ($\text{pH} > \text{pK}_a$), a XLE membrana ima negativni naboj koji iznosi -9,31 mV. Negativni naboj NF membrane iznosi -2,19 mV, a NF270 membrane -3,07 mV. Prema tome prisutno je i elektrostatsko odbijanje, koje je najjače kod XLE membrane s obzirom da ta membrana ima najveći negativni naboj.

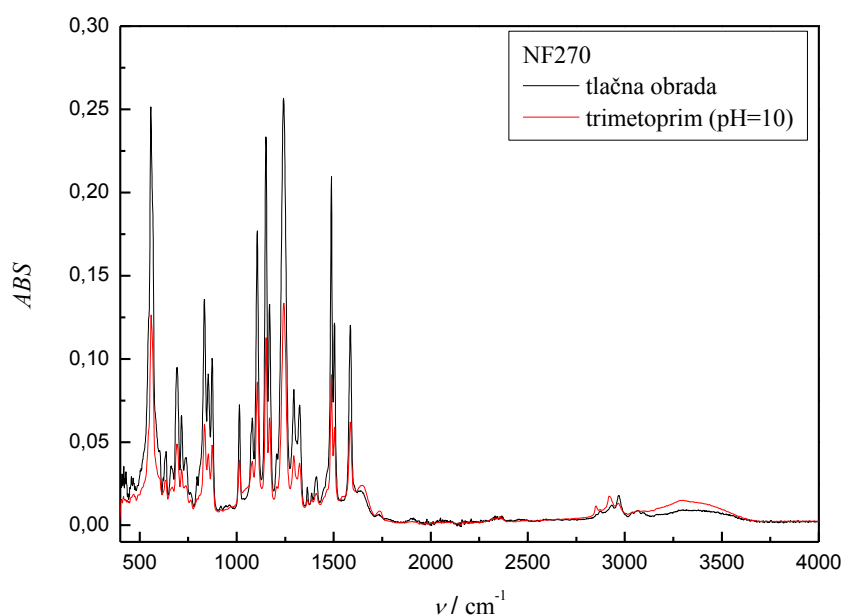
FTIR spektri za XLE, NF i NF270 membrane prije i nakon obrade s otopinom trimetoprima prikazani su na slikama 4.6. - 4.8. Za trimetoprim se ne očekuje adsorpcija, tj. interakcije s XLE i NF membranama zbog hidrofilnog karaktera komponente i membrana. Međutim na FTIR spektru NF270 membrane mogu se primijetiti vibracije karbonilne skupine u području 1648 i 1736 cm^{-1} . Vidljiva je i prisutnost H-veza, koje trimetoprim stvara s PA membranskom površinom, u području od 3083 do 3619 cm^{-1} .



Slika 4.6. FTIR spektri za XLE membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom trimetoprima.

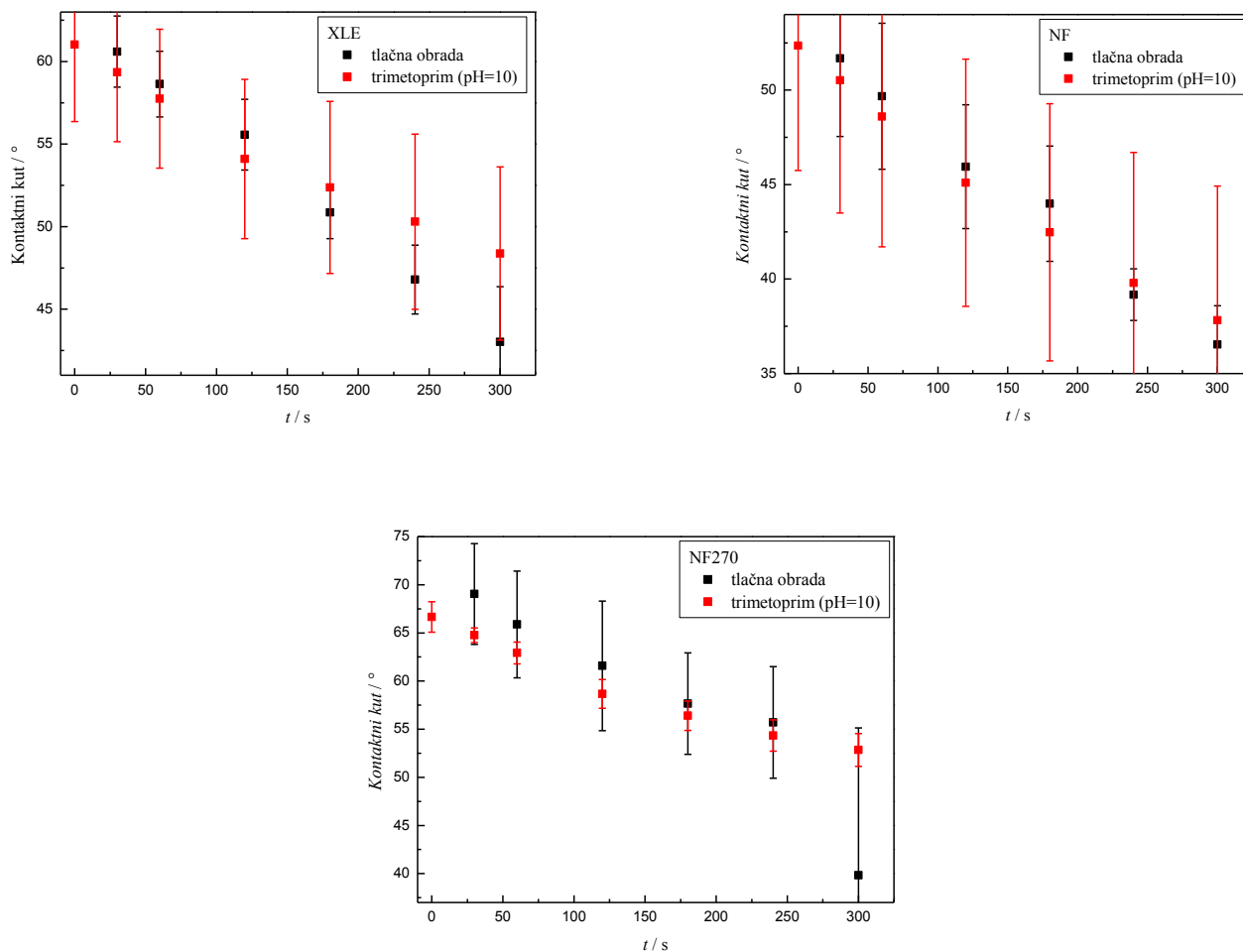


Slika 4.7. FTIR spektri za NF membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom trimetoprima.



Slika 4.8. FTIR spektri za NF270 membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom trimetoprima.

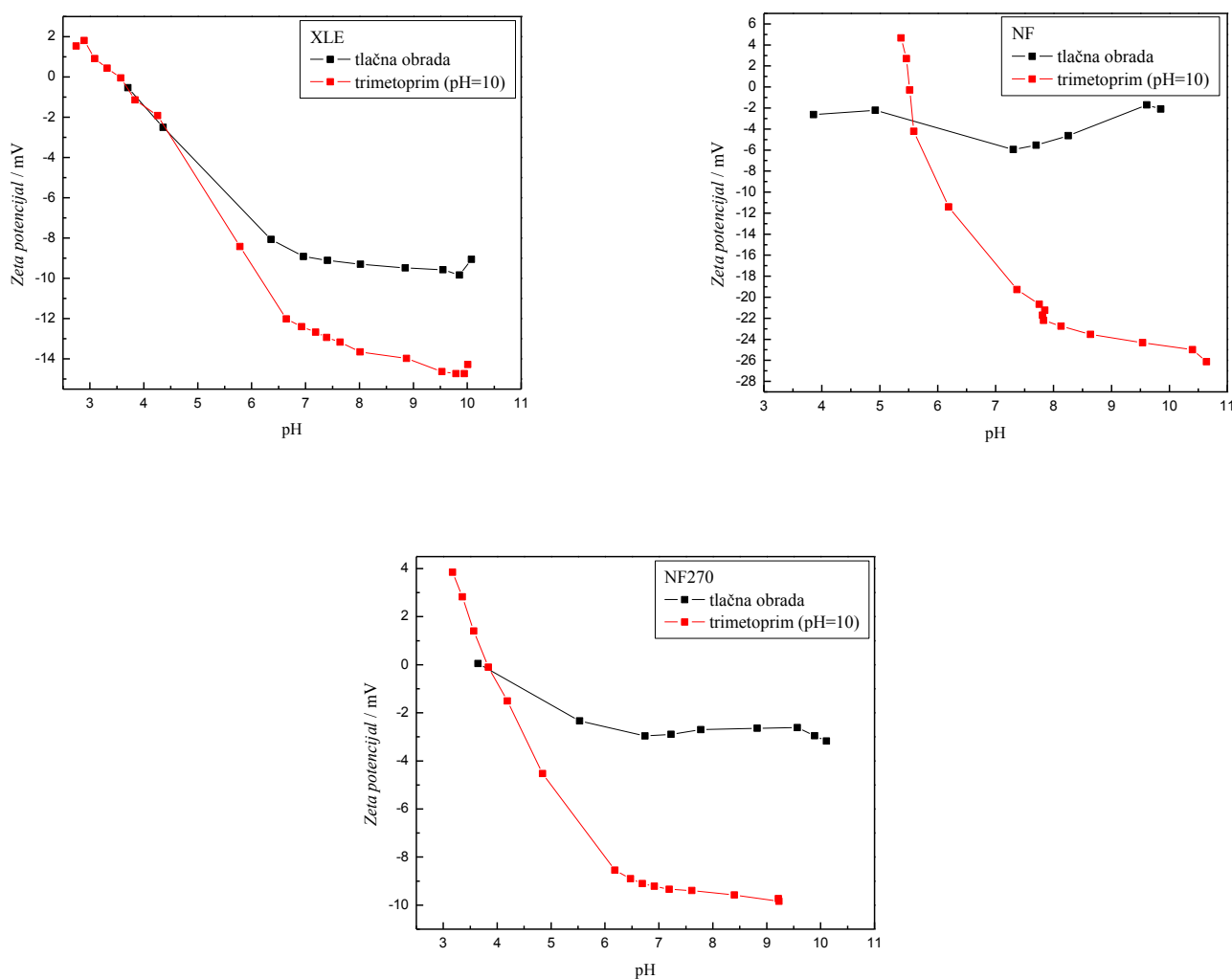
Vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrane prikazane su na slici 4.9. Nakon tretmana otopinom trimetoprima kod sve tri membrane nisu uočene značajnije promjene.



Slika 4.9. Vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom trimetoprima.

Rezultati analize zeta potencijala prikazani su na slici 4.10. Nakon obrade otopinom trimetoprima pri nižim pH vrijednostima kod XLE membrane nema promjena u zeta potencijalu, dok su kod NF i NF270 membrana vrijednosti zeta potencijala postale pozitivnije. Negativniji zeta potencijal pri višim pH vrijednostima ukazuje na deprotonaciju karbonilnih i

amino skupina. Budući da je u tablici 4.6. kod XLE membrane vidljivo konstantno uklanjanje trimetoprima tijekom 5 h rada i na FTIR spektru nije primijećena adsorpcija, razlog pada vrijednosti zeta potencijala mogu biti elektrostatske interakcije navedene membrane i farmaceutika. Kod NF membrane koeficijent zadržavanja trimetoprima s vremenom pada, dok je najveći pad vidljiv kod NF270 membrane. Pad vrijednosti koeficijenta zadržavanja očiti je dokaz da se komponenta adsorbirala, što je kod NF270 membrane potvrđeno i FTIR spektrom i u skladu je s dobivenim rezultatima analize zeta potencijala. Za XLE membranu IET točka izmjerena je pri $\text{pH} = 3,5$, a za NF270 membranu pri $\text{pH} = 3,8$. Kod NF membrane IET je određena pri $\text{pH} = 5,5$.



Slika 4.10. Zeta potencijal za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom trimetoprima.

4.2.3. Uklanjanje hidrokortizona RO/NF membranama

Hidrokortizon je hidrofilna molekula ($\log K_{O/W} = 1,61$) najveće molekulske mase, $M_w = 362,47$ g/mol) od svih ispitivanih farmaceutika. Pri pH = 10 nalazi se u svom protoniranom obliku ($pK_a = 12,58$). Zbog smjera dipolnog momenta planarna molekula hidrokortizona može se orijentirati prema membranskoj površini tako da je okomita na pore membrane. U tablici 4.7. prikazani su koeficijenti zadržavanja hidrokortizona u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana.

Tablica 4.7. Koeficijenti zadržavanja hidrokortizona XLE, NF, i NF270 membranama u ovisnosti o vremenu.

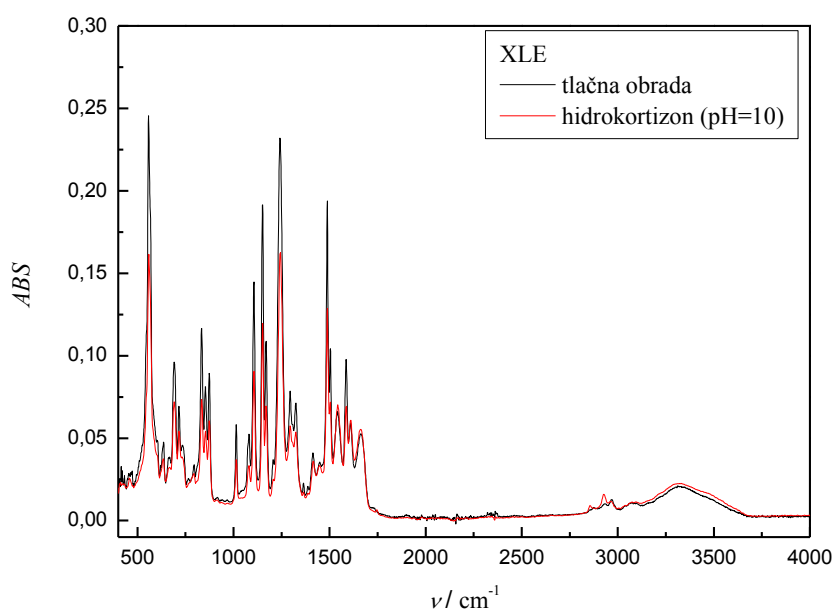
<i>t</i> , h	<i>R</i> (%)					
	XLE-1	NF-2	NF270-3	NF270-4	NF-5	XLE-6
0	94,03	97,43	68,50	50,65	62,99	96,18
1	92,94	97,44	69,36	52,17	60,58	96,63
2	94,47	97,39	70,57	50,00	59,63	96,84
3	95,53	97,23	69,29	48,98	58,62	97,04
4	95,62	97,34	66,89	44,48	54,78	97,16
5	96,11	97,38	70,37	44,97	54,42	97,32

Najbolje uklanjanje hidrokortizona pokazuju XLE (od 92,94 do 97,32 %) i NF-2 (od 97,23 do 97,44 %) membrane. Osim toga, XLE membrana pokazala je najbolje zadržavanje hidrokortizona i u odnosu na ostale ispitane farmaceutike. Takvi rezultati za XLE membranu uočeni su i u radu Vertuš [32]. Nešto manje zadržavanje vidljivo je kod NF-5 i NF270 membrana. Rezultati u radu Dolar i sur. [33] također su pokazali najbolje i konstantno

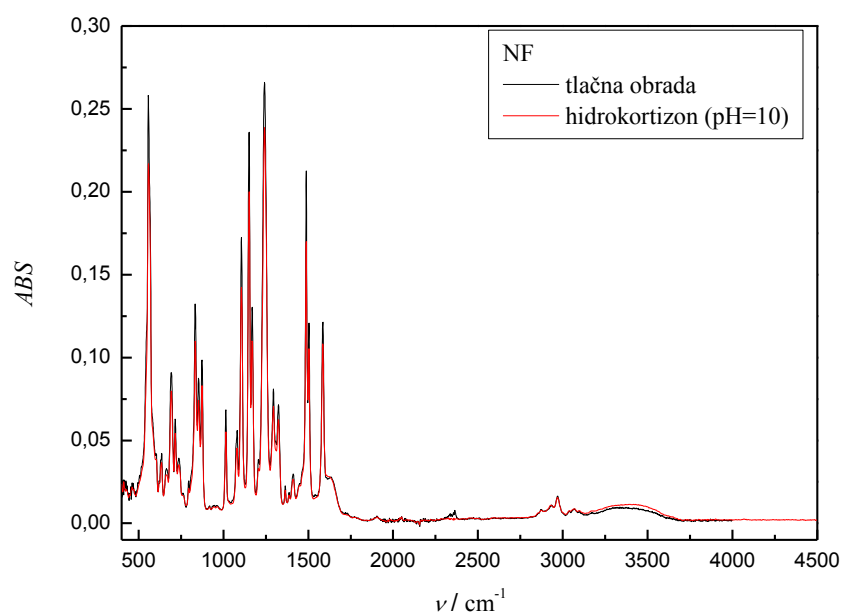
uklanjanje hidrokortizona XLE membranom, te nešto slabije uklanjanje NF270 membranom, što je očekivano zbog prisutnosti većih pora u selektivnom sloju.

Obzirom da je MWCO za sve tri membrane znatno manji od M_w hidrokortizona, može se zaključiti da je dominantan mehanizam uklanjanja i u ovom slučaju bio isključenje veličinom. Vjerojatno je prisutno i elektrostatsko privlačenje između hidrokortizona i membranske površine, obzirom da je molekula hidrokortizona pozitivno nabijena ($\text{pH} < \text{p}K_a$), dok su naboji membrana negativni. XLE membrana ima naboj od -9,31 mV, NF membrana -2,19 mV, a NF270 membrana -3,07 mV. Prema tome, najjače elektrostatsko privlačenje prisutno je kod XLE membrane.

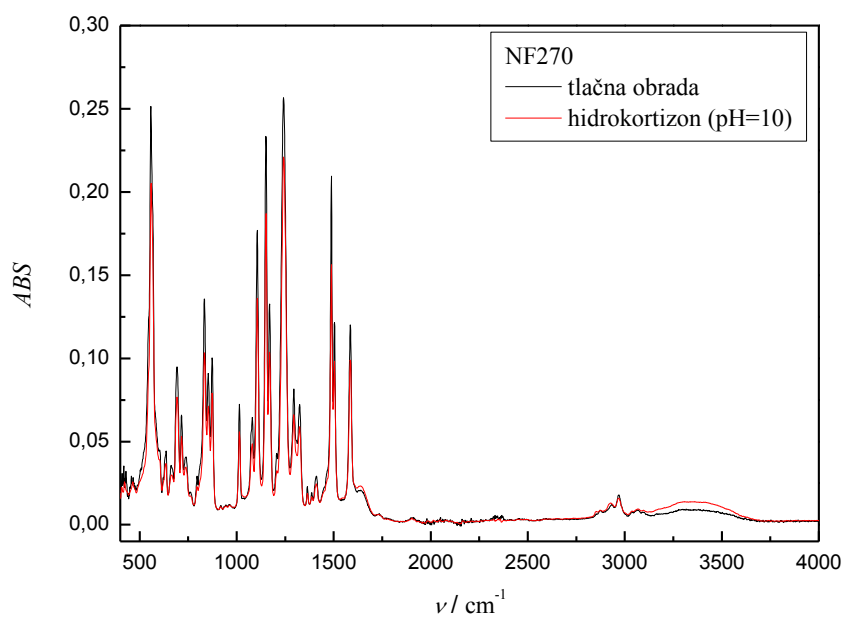
FTIR spektri za XLE, NF i NF270 membrane prije i nakon obrade s otopinom hidrokortizona prikazani su na slikama 4.11. - 4.13. Na FTIR spektru za NF270 u području $3083 - 3612 \text{ cm}^{-1}$ vidljivo je postojanje H-veza koje hidrokortizon stvara s PA površinom membrane. Na FTIR spektrima za XLE i NF vidljivo je da nema kemijskih promjena na membranama.



Slika 4.11. FTIR spektri za XLE membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom hidrokortizona.

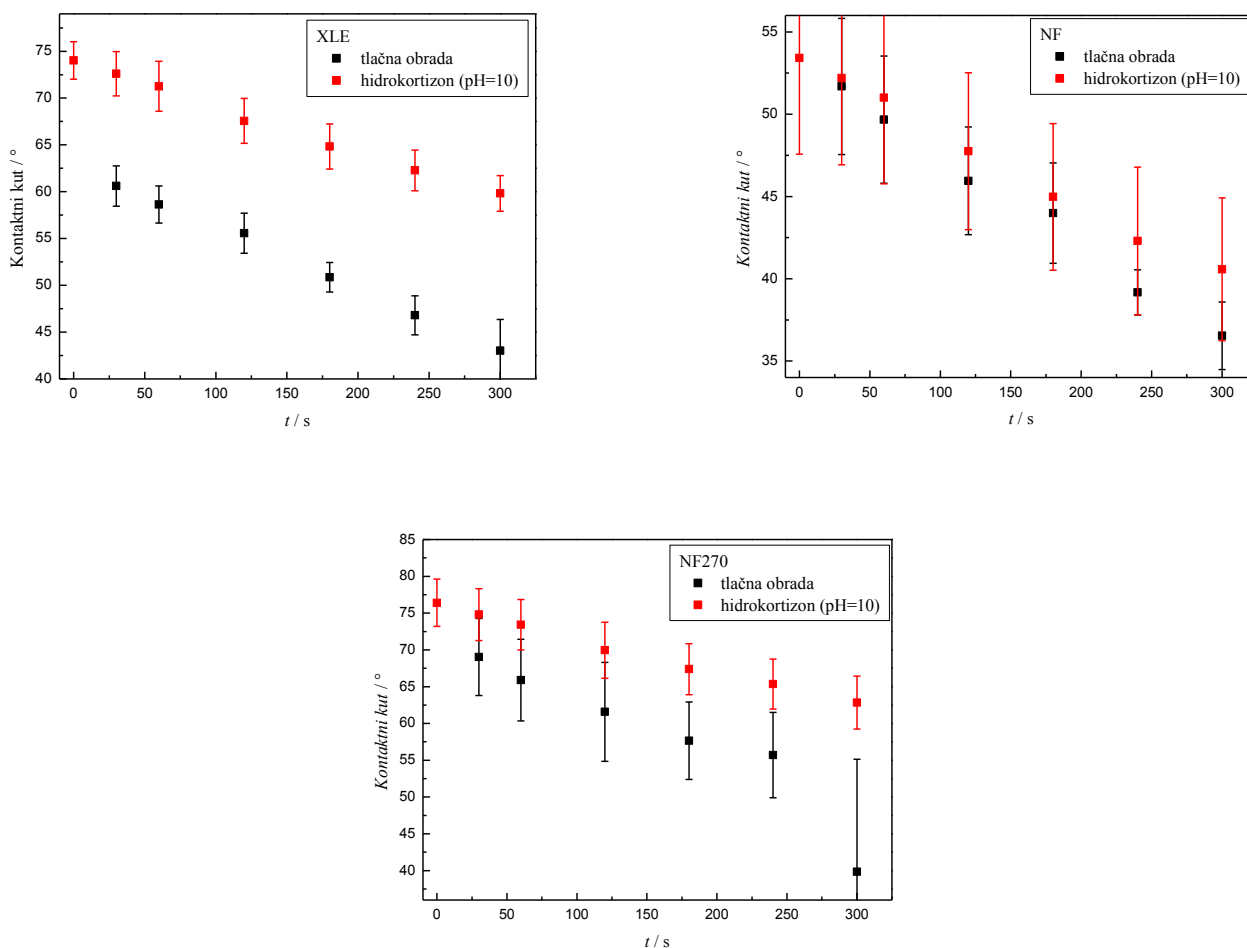


Slika 4.12. FTIR spektri za NF membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom hidrokortizona.



Slika 4.13. FTIR spektri za NF270 membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom hidrokortizona

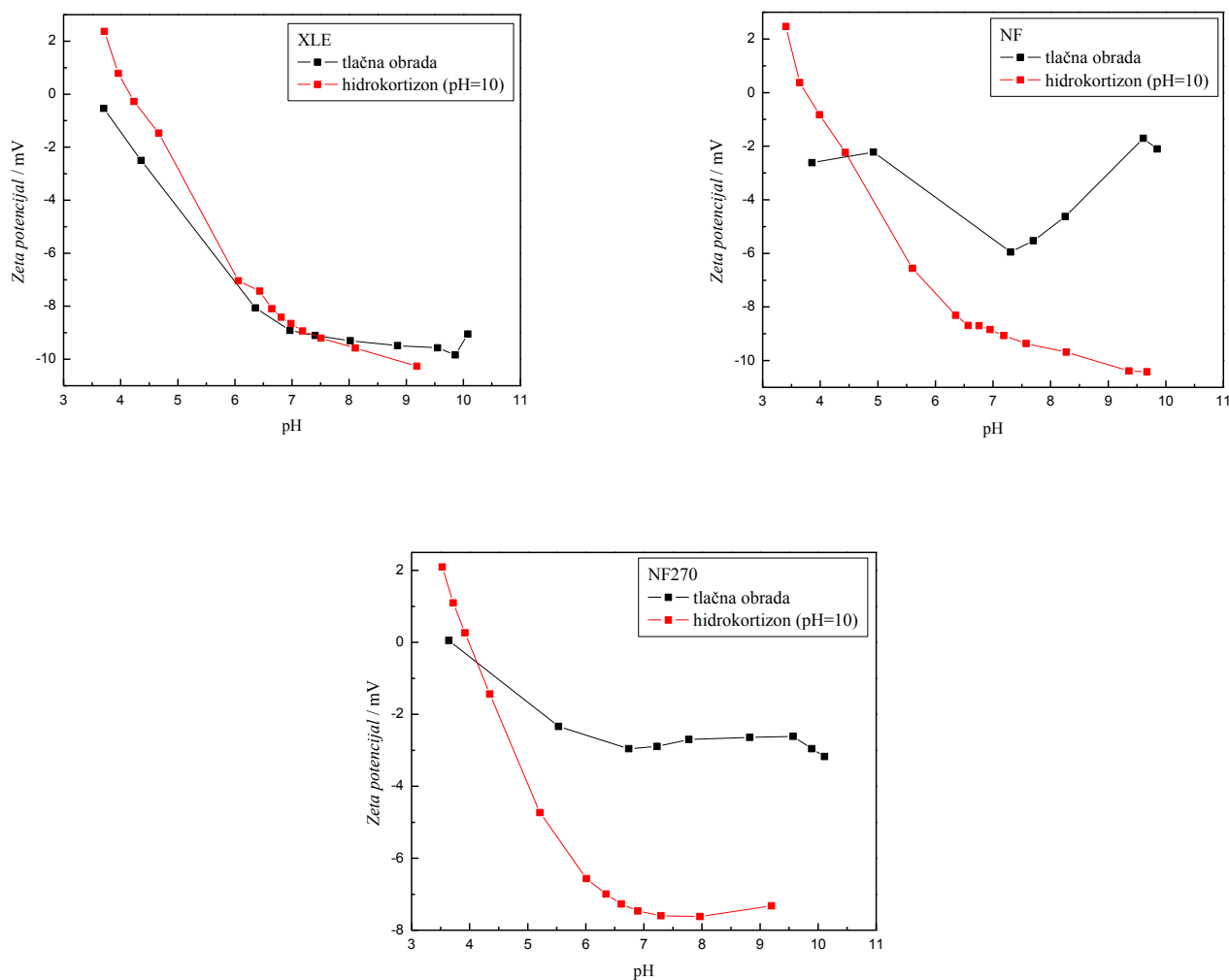
Promjene vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrane prikazane su na slici 4.14. Kod XLE membrane dolazi do povećanja vrijednosti kontaktnog kuta za 12° , što znači da je membrana postala hidrofobnija. S obzirom da je hidrokortizon hidrofilna komponenta, te da su vrijednosti koeficijenta zadržavanja tijekom 5 h rada kod XLE membrane konstantne i na FTIR spektru nije vidljiva adsorpcija, trenutno nema objašnjenja za takav porast vrijednosti kontaktnog kuta. Za NF membranu nisu uočene značajnije promjene, no kod NF270 membrane također dolazi do porasta vrijednosti kontaktnog kuta.



Slika 4.14. Vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom hidrokortizona.

Rezultati analize zeta potencijala prikazani su na slici 4.15. Kod XLE membrane nakon tretmana otopinom hidrokortizona nisu uočene značajne promjene. Površina membrane

postala je neznatno pozitivnija ispod $\text{pH} = 7$, a IET točka izmjerena je pri $\text{pH} = 4,2$. Zeta potencijal NF membrane kod nižih pH vrijednosti pozitivniji je zbog protonacije karbonilnih skupina, iako FTIR spektar ne pokazuje adsorpciju. IET kod NF membrane određena je pri $\text{pH} = 3,7$. Zeta potencijal NF270 membrane pada prema višim pH vrijednostima i najniži je pri $\text{pH} = 7,9$, nakon čega opet blago raste. Razlog tome su vjerojatno interakcije hidrokortizona i NF270 membrane vidljive na FTIR spektru. Zbog protonacije amidne i karbonilne skupine koje sudjeluju u stvaranju H-veza, dolazi do porasta zeta potencijala u tim područjima. Prema tome, dobiveni rezultati potvrđuju da je došlo do adsorpcije hidrokortizona, što je vidljivo i u padu vrijednosti koeficijenta zadržavanja tijekom 5 h rada s NF270-4 membranom. IET NF270 membrane određena je pri $\text{pH} = 4$.



Slika 4.15. Zeta potencijal za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom hidrokortizona.

4.2.4. Uklanjanje albendazola RO/NF membranama

Albendazol je najhidrofobnija molekula od svih ispitivanih farmaceutika s obzirom da je log $K_{O/W}$ vrijednost najveća i iznosi 3,07. Pri pH = 10 nalazi se u svom deprotoniranom obliku ($pK_a = 6,10$). Molekula albendazola planarne je strukture, a dipolni moment orijentiran je prema karbonilnoj skupini na „repu“ molekule zbog čega se ona može lagano orijentirati tom stranom prema površini membrane i ući u pore membrane. U tablici 4.8. prikazani su koeficijenti zadržavanja albendazola u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana.

Tablica 4.8. Koeficijenti zadržavanja albendazola XLE, NF, i NF270 membranama u ovisnosti o vremenu.

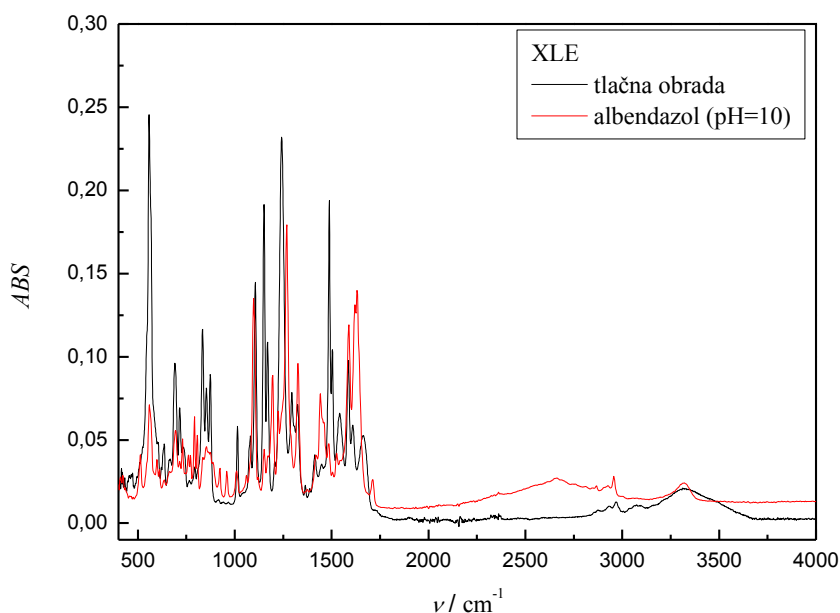
t, h	$R (\%)$					
	XLE-1	NF-2	NF270-3	NF270-4	NF-5	XLE-6
0	> 99,99	94,81	87,02	84,09	86,37	> 99,99
1	96,87	87,30	71,64	70,94	72,52	97,10
2	96,33	83,98	60,37	59,09	65,91	96,18
3	95,16	78,31	57,08	55,27	61,42	95,11
4	94,10	75,66	50,12	49,82	52,57	94,25
5	93,83	71,37	39,83	42,77	50,14	92,94

Najbolje uklanjanje albendazola imaju XLE membrane (> 99,99 %). Nešto manje zadržavanje albendazola vidljivo je kod NF membrana, dok je najslabije s NF270 membranama.

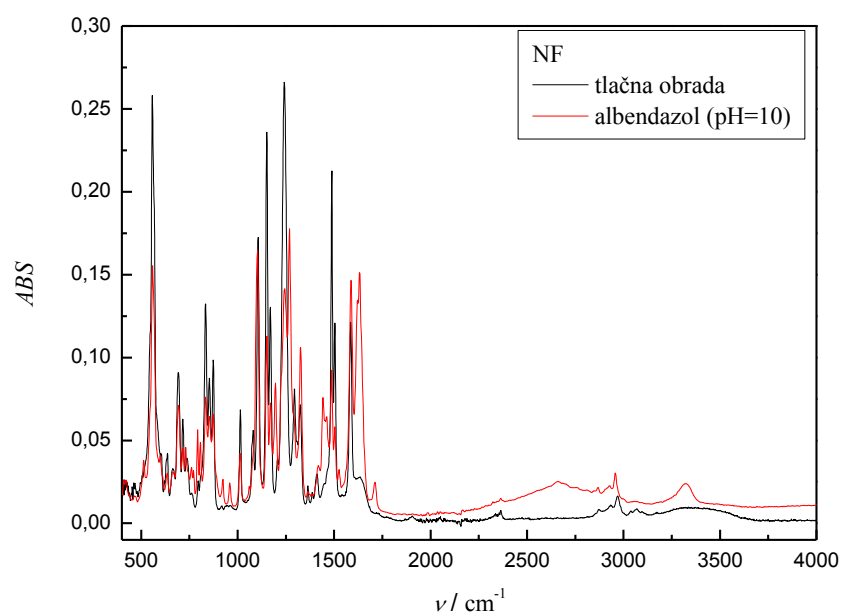
Prema dobivenim rezultatima i karakteristikama membrana, zbog razlike između vrijednosti MWCO XLE membrane i M_w albendazola koja iznosi 265,33 g/mol, može se

zaključiti da je prisutan mehanizam uklanjanja albendazola isključenje veličinom. Molekula albendazola negativno je nabijena ($\text{pH} > \text{pK}_a$), a XLE membrana ima negativni naboj koji iznosi -9,31 mV. Negativni naboj NF membrane iznosi -2,19 mV, a NF270 membrane -3,07 mV. Prema tome, kao kod trimetoprima, prisutno je i elektrostatsko odbijanje između albendazola i membranske površine.

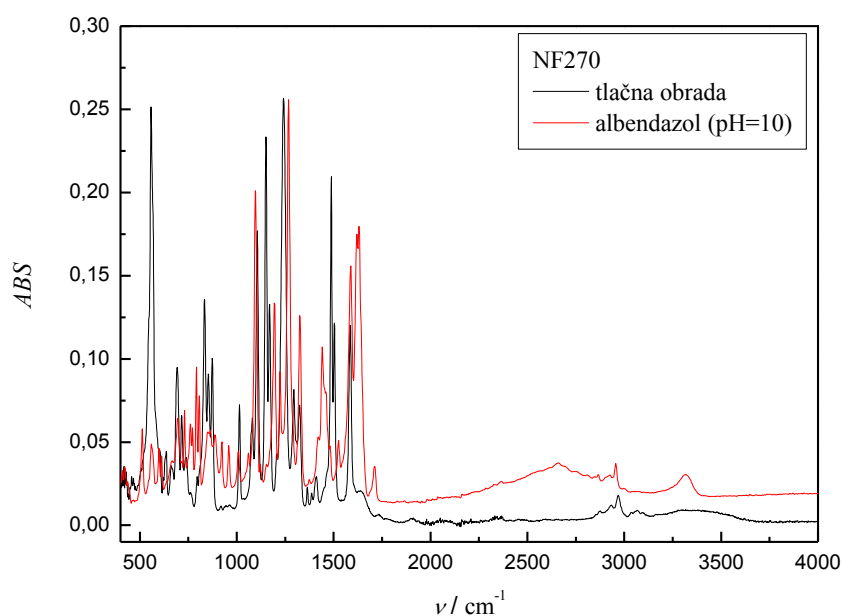
FTIR spektri za XLE, NF i NF270 membrane prije i nakon obrade s otopinom albendazola prikazani su na slikama 4.16. - 4.18. Za sve tri membrane uočene su značajne promjene u kemijskoj strukturi površinskog sloja. Kod XLE, NF i NF270 membrana u području između $2180 - 2850 \text{ cm}^{-1}$ vidljivo je pomicanje cijele bazne linije spektra. Takav utjecaj albendazola na površinsku strukturu navedenih membrana uočen je i kod drugih autora [27, 32]. Nova široka vrpca posljedica je vezanja albendazola na površinu membrana. U području između $900 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ nalazi se vrpca svijanja metilne skupine ($-\text{CH}_3$), a između $1420 - 1480 \text{ cm}^{-1}$ nalazi se vrpca istezanja konjugiranih $=\text{C}=\text{C}=$ veza. Vrpca vibracija karbonilne skupine ($>\text{C}=\text{O}$) vidljiva je u području između $1600 - 1660 \text{ cm}^{-1}$. Također je na 3324 cm^{-1} vidljiva vrpca koja odgovara H-vezi između H i N atoma. Dobiveni FTIR spektri očiti su dokaz adsorpcije albendazola, što je ujedno potvrđeno i padom vrijednosti koeficijenta zadržavanja kod sve tri membrane tijekom 5 h rada.



Slika 4.16. FTIR spektri za XLE membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom albendazola.

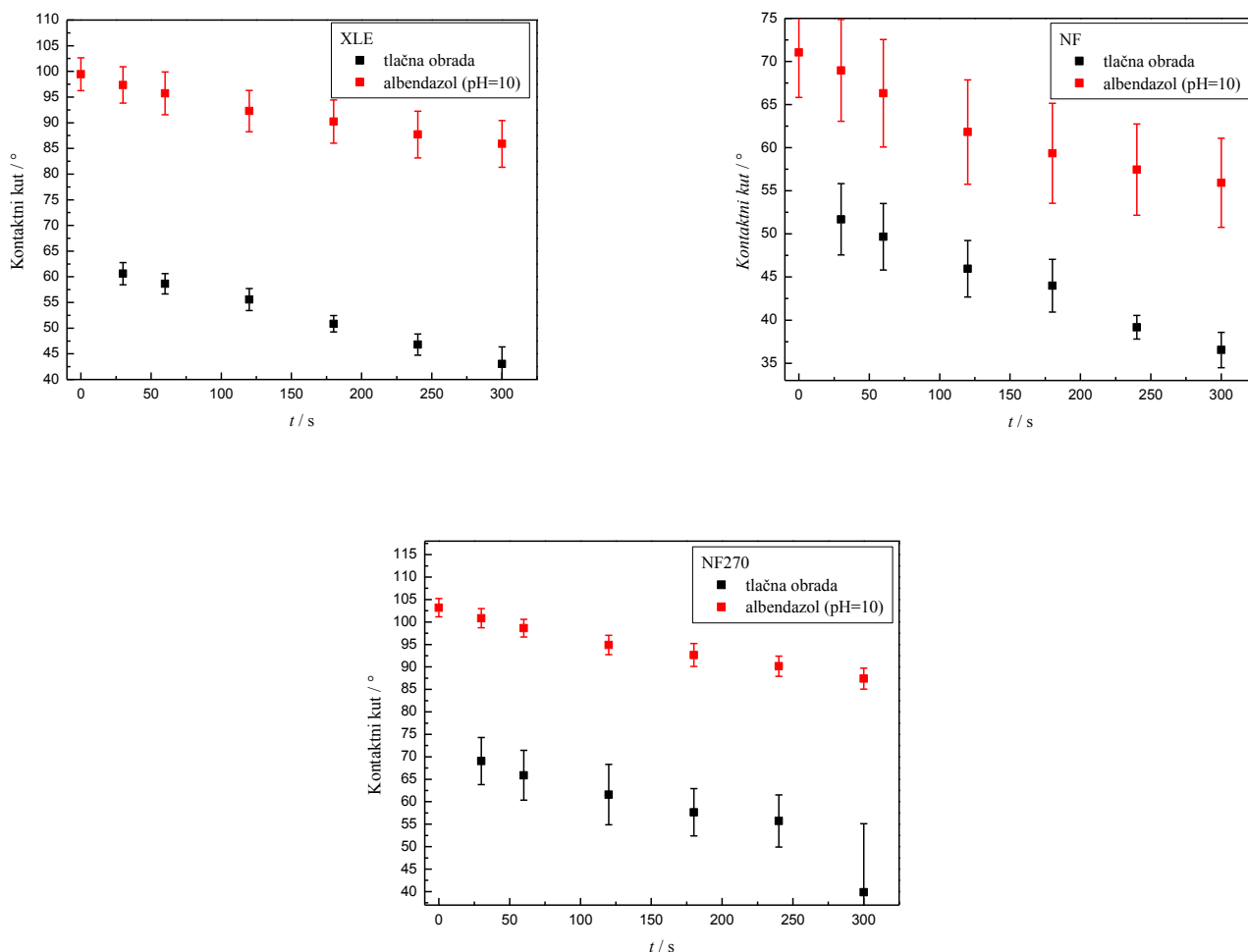


Slika 4.17. FTIR spektri za NF membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom alendazola.



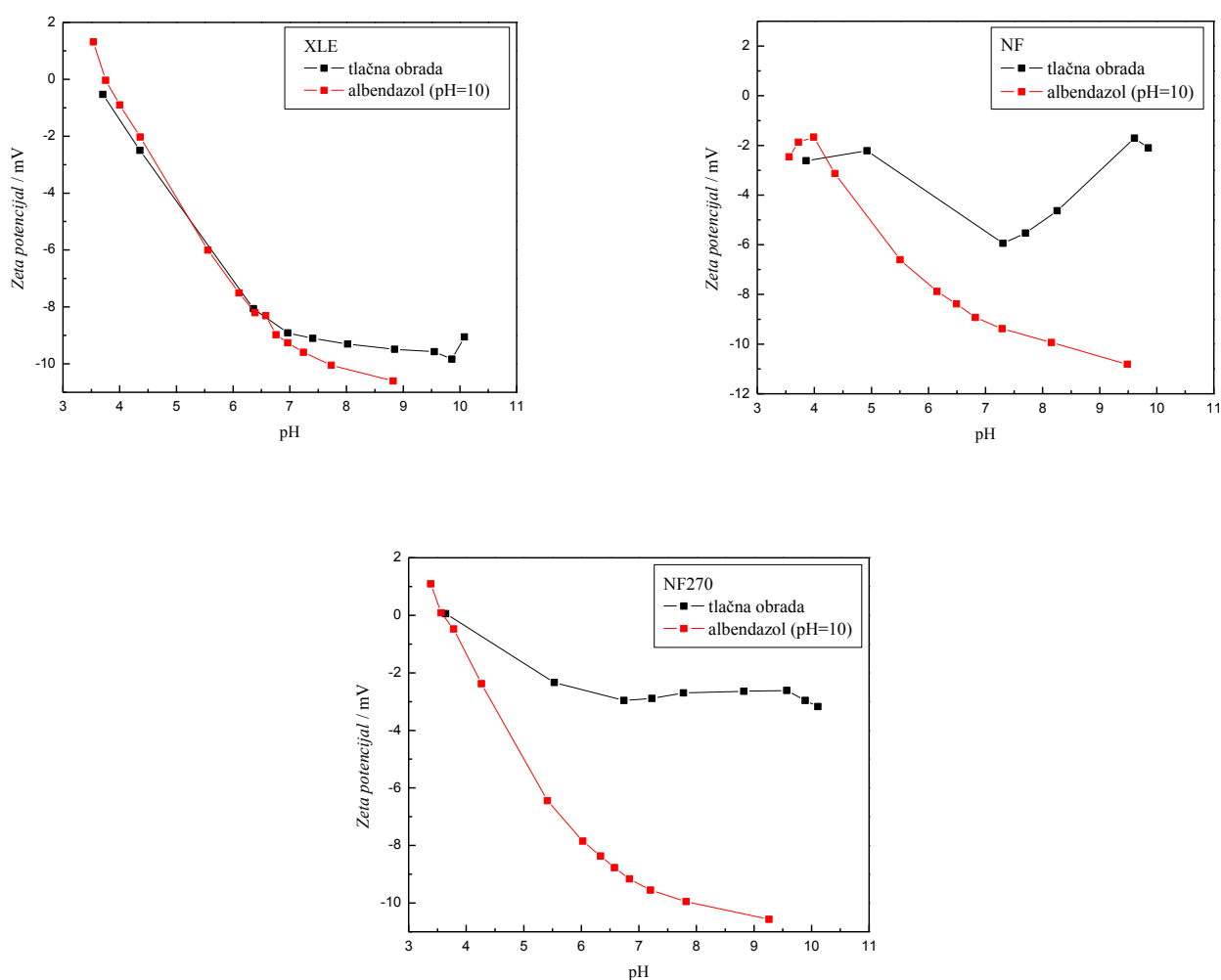
Slika 4.18. FTIR spektri za NF270 membranu nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom alendazola.

Vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrane prikazane su na slici 4.19. Za sve tri membrane vidljive su znatne promjene. Najveći porast kontaktnog kuta može se uočiti kod XLE membrane, a razlika u vrijednosti nakon tlačne obrade i nakon tretmana otopinom albendazola iznosi 47° . Kod NF270 membrane vrijednost kontaktnog kuta porasla je za 31° , a kod NF membrane za 17° . Prema dobivenim rezultatima vidljivo je da je albendazol, kao najhidrofobnija molekula od ispitivanih farmaceutika, imao znatan utjecaj na površinsku strukturu korištenih membrana, što je rezultiralo porastom njihove hidrofobnosti.



Slika 4.19. Vrijednosti kontaktnog kuta za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom albendazola.

Rezultati analize zeta potencijala prikazani su na slici 4.20. Iako albendazol stupa u interakciju s XLE membranom, što potvrđuje i FTIR spektar, nema znatnih promjena zeta potencijala. Ispod $\text{pH} = 5$ membrana je postala neznatno pozitivnija, a IET točka izmjerena je pri $\text{pH} = 3.7$. Zeta potencijal NF i NF270 membrana kod viših pH vrijednosti negativniji je zbog deprotonacije karbonilnih skupina. To potvrđuje da je albendazol stupio u interakciju s membranskom površinom, te je došlo do stvaranja kemijskih veza između farmaceutika i PA površine membrana. IET NF270 membrane određena je pri $\text{pH} = 3.5$, dok ona nije izmjerena za NF membranu.



Slika 4.20. Zeta potencijal za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana s otopinom albendazola.



5. ZAKLJUČAK



Cilj ovog rada bio je ispitati učinkovitost i mehanizam uklanjanja odabranih farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon i albendazol) RO/NF membranama (XLE, NF i NF270) iz ultra čiste vode u lužnatim uvjetima.

Najveću učinkovitost uklanjanja farmaceutika pokazala je RO XLE membrana, što je i očekivano s obzirom na najmanju veličinu pora. Uočeno je da zadržavanje farmaceutika s XLE membranom raste s povećanjem hidrofobnosti odabranih farmaceutika. Osim toga XLE membrana pokazala je i relativno konstantno uklanjanje farmaceutika tijekom 5 h rada. Nešto slabiju učinkovitost uklanjanja u odnosu na XLE membranu pokazale su NF i NF270 membrane. Takvi rezultati potvrđuju da je dominantan mehanizam uklanjanja bio isključenje veličinom, no utjecaj na učinkovitost uklanjanja imale su i elektrostatske interakcije.

Općenito je kod svih membrana uočeno najslabije uklanjanje sulfagvanidina, što je očekivano zbog njegove molekulske mase koja je najmanja u odnosu na ostale ispitane farmaceutike. Kod XLE i NF270 membrana uočeno je najbolje zadržavanje albendazola, dok je NF membrana pokazala najveću učinkovitost uklanjanja hidrokortizona kao molekule s najvećom molekulskom masom.

FTIR analizom dokazana je adsorpcija najhidrofobnije molekule, albendazola na sve RO/NF membrane, dok sulfagvanidin kao najhidrofilnija molekula nije stupio u interakciju s njima.

Interakcije između membrana i ispitanih farmaceutika ne ovise samo o hidrofobnom karakteru već i o fizikalno-kemijskim svojstvima membrana i farmaceutika. Osim toga, utjecaj farmaceutika na membranski poliamidni sloj uočen je i u promjenama vrijednosti kontaktnog kuta i zeta potencijala.



6. POPIS SIMBOLA



POPIS SIMBOLA

pH - negativni logaritam koncentracije vodikovih iona

Δ - delta (razlika)

c – molarna ili množinska koncentracija (mol/L)

p – tlak (bar)

T – temperatura (°C)

π – osmotski tlak (bar)

ζ – zeta potencijal (mV)

R_f – koeficijent zadržavanja (%)

$K_{O/W}$ – koeficijent raspodjele između oktanola i vode

$\log K_{O/W}$ - logaritamska vrijednost koeficijenta raspodjele između oktanola i vode

K_a – konstanta disocijacije kiseline

pK_a – logaritamska vrijednost konstante disocijacije kiseline ($\log K_a$)

J – protok permeata (L/(m² h))

M_w – molekulska masa, eng. *molecular weight* (g/mol)

$\log D$ – koeficijent distribucije

μ – dipolni moment (D)

λ - valna duljina (cm⁻¹)

γ – masena koncentracija (mg/L)

w – maseni udio (%)

t – vrijeme (h)

A – površina (cm²)

IET – izoelektrična točka, eng. *IsoElectric Point* (mV)

c_f – koncentracija tvari u pojnoj smjesi (g/mol)

c_p – koncentracija tvari u permeatu (g/mol)

Kratice

RO – reverzna osmoza

NF – nanofiltracija

MF – mikrofiltracija

UF – ultrafiltracija

FTIR – Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala

PA – poliamid

PAN – poliakrilonitril

PSf – polisulfon

PES – polietersulfon

TFC – tankoslojna kompozitna membrana, eng. *Thin film composite*

DIA – dijaliza

GP – permeacija plina

PV – pervaporacija

ED – elektrodijaliza

VRP – veličinska raspodjela pora

MWCO – granične molekulske mase komponente eng. *Molecular Weight Cut-Off*

SEM - elektronski pretražni mikroskop, eng. *Scanning electron microscope*

MDK – maksimalno dopuštena koncentracija

H – spremnik za pojnu smjesu

VP – visokotlačna pumpa

M – manometar

BPR – regulator tlaka

DAD – detektor s nizom dioda, eng. *Diode Array Detector*

EKA – elektrokinetički analizator, eng. *Electro Kinetic Analyzer*

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti



7. LITERATURA



LITERATURA

- [1] Dolar, D., Utjecaj poroznosti i ostalih karakteristika NF/RO membrana na njihovu separacijsku djelotvornost pri obradi voda, Disertacija, (2009) 3-38.
- [2] Boxall, Alistair B.A., The environmental side effects of medication, *EMBO Reports*, (2004) 1110-1116.
- [3] Košutić, K., Membranske tehnologije obrade voda, Zbirka nastavnih tekstova, (2014) 19-32.
- [4] Judd, S., Membrane technology, u: Judd, S., Jefferson, B., *Membranes for Industrial Wastewater Recovery and Re-use*. Oxford, Elsevier I.t.d., (2003) 14-70.
- [5] Madsen, Tækker, H., Chapter 6 – Membrane Filtration in Water Treatment – Removal of Micropollutants. u: *Chemistry of Advanced Environmental Purification Processes of Water*, Oxford, Elsevier, (2014) 199–248.
- [6] Drioli, E., Macedonio, F., Membrane Operations in Water Treatment and Reuse, Water in mineral processing, *Proceedings*, (2012) 105-113.
- [7] Nghiem, L.D., Scäfer, A.I., Eliemelech, M., Role of electrostatic interactions in the retention of pharmaceutically active contaminants by a loose nanofiltration membrane, *J. Membr. Sci.*, **286** (2006) 52-59.
- [8] Radjenović, J., Petrović, M., Ventura, F., Barcélo, D., Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment, *Water Res.*, **42** (2008) 3601-3610.
- [9] Lau, W.J., Ismail, A.F., Misdan, N., Kassim, M.A., A recent progress in thin film composite membrane: A review. Skudai, Johor, Malaysia, *Desalination*, **287** (2012) 190–199.
- [10] Schäfer, A.I., Akanyeti I., Andrea, Semião, J.C., Removal of adsorbing estrogenic micropollutants by nanofiltration membranes. Part A—Experimental evidence, *J. Membr. Sci.*, **431** (2013) 244-256.
- [11] Bellona, C., Drewes, J.E., Xu, P., Amy, G., Factors affecting the rejection of organic solutes during NF/RO treatment - A literature review, *Water Res.*, **38** (2004) 2795-2809.
- [12] Comerton, M.A., Andrews, R.C., Bagley, D.M., Hao, C., The rejection of endocrine disrupting compounds and pharmaceutically active compounds by NF and RO membranes as a function of compound and water matrix properties, *J. Membr. Sci.*, **31** (2008) 323-335.

- [13] Verliefde, A.R.D., Cornelissen, E.R., Heijman, S.G.J., Verberk, J.Q.J.C., Amy, G.L., Van der Bruggen, B., van Dijk, J.C., The role of electrostatic interactions on the rejection of organic solutes in aqueous solutions with nanofiltration, *J. Membr. Sci.*, **322** (2008) 52-66.
- [14] Xu, P., Drewes, J.E., Kim, T.U., Bellona, C., Amy, G., Effect of membrane fouling on transport of organic contaminants in NF/RO membrane applications, *J. Membr. Sci.*, **279** (2006) 165-175.
- [15] Kimura, K., Amy, G., Drewes, J., Watanabe, Y., Adsorption of hydrophobic compound onto RO/NF membranes: an artifact leading to overestimation of rejection, *J. Membr. Sci.*, **221** (2003) 89-101.
- [16] Van der Bruggen, B., Schaep, J., Wilms, D., Vandecasteele, C., Influence of molecular size, polarity and charge on the retention of organic molecule by nanofiltration, *J. Membr. Sci.*, **156** (1999) 29-41.
- [17] Košutić, K., Kaštelan-Kunst, L., Kunst, B., Porosity of some commercial reverse osmosis and nanofiltration polyamide thin-film composite membranes, *J. Membr. Sci.*, **168** (2000) 101-108.
- [18] Lalia, B.S., Kochkodan, V., Hashaiekh, R., Hilal, N., A review on membrane fabrication: Structure properties and performance relationship, *Desalination*, **326** (2013) 77-95.
- [19] Mouhoumed, E.I., Szymczyk, A., Schäfer, A., Pangam, L., La, Y.H., Physico-chemical characterization of polyamide NF/RO membranes: insight from streaming current measurements, *J. Membr. Sci.*, **461** (2014) 130-138.
- [20] Homen, V., Santos, L., Degradation and removal methods from aqueous matrices – A review, *J. Environ. Manag.* **92** (2011) 2304-2347.
- [21] Daughton, C.G., *Pharmaceutical in the Environment: Sources and Their Management*, Petrović, M., Pérez, S., Barcelo, D., *Comprehensive Analytical Chemistry Vol 62: Analysis, Removal, Effects and Risks of Pharmaceuticals in the Water Cycle*, Poland, Wilson & Wilson's, (2013) 37-64.
- [22] Nghiem, L.D., Schäfer, A.I., Elimelech, M., Nanofiltration of Hormone Mimicking Trace Organic Contaminants, *Separ. Sci. Technol.*, **40** (2005) 2633–2649.
- [23] Košutić, K., Dolar, D., Ašperger, D., Kunst, B., Removal of antibiotics from a model wastewater by RO/NF membranes, *Sep. Purif. Technol.*, **53** (2007) 244-249.

LITERATURA

- [24] Dolar, D., Košutić, K., Radman, S., Horvat, A., Removal of anthelmintic drugs and their photodegradation products from water with RO/NF membranes, *Process Saf. Environ.* **90** (2012) 147–152.
- [25] www.chemspider.com (pristup 02. svibnja 2016.)
- [26] Frisch, M.J. et. al. ,G., Revision A.02., Gaussian, Inc Wallingford CT, (2009).
- [27] Drašinac, N., Ispitivanje interakcija poliamidnih RO/NF membrana s organskim tvarima, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, (2014) 21-32.
- [28] Atkin, O., Temelli, F., Probing the hydrophobicity of commercial reverse osmosis membranes produced by interfacial polymerization using contact angle, XPS, FTIR, FE-SEM and AFM, *Desalination*, **278** (2011) 387-396.
- [29] Košutić, K., Dolar, D., Kunst, B., On experimental parameters characterizing the reverse osmosis and nanofiltration membranes' active layer, *J. Membr. Sci.*, **282** (2006) 109–114.
- [30] Munoz, L., Sotoca, M.J., Arsuagaa, A., Bruggenb, J.M., Influence of membrane, solute and solution properties on the retention of phenolic compounds in aqueous solution by nanofiltration membranes, *Sep. Purif. Technol.*, **66** (2009) 194-201.
- [31] Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyders, S.A., Wert, E.C., Nanofiltration and ultrafiltration of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products, *J. Membr. Sci.*, **270** (2006) 88-110.
- [32] Vertuš, K., Uklanjanje farmaceutika RO/NF membranama iz voda u kiselim uvjetima, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, (2014) 26-27.
- [33] Dolar, D., Košutić, K., Ašperger, D., Influence of Adsorption of Pharmaceuticals onto RO/NF Membranes on Their Removal from Water, *Water Air Soil Pollut.*, **224** (2013) 1-13.



8. ŽIVOTOPIS



Rođena sam 09. listopada 1989. u Zagrebu. Osnovnoškolsko obrazovanje započela sam u OŠ „Milana Langa“ u Bregani, a završila sam ga u OŠ „Dubovac“ (2004.) u Karlovcu. Srednjoškolsko obrazovanje završila sam 2008. godine u Prirodoslovnoj školi Karlovac. Od 2008. godine pohađala sam Veleučilište u Karlovcu. 2011. godine stekla sam titulu stručne prvostupnice – inženjerke prehrambene tehnologije (*bacc.ing.techn.aliment.*) obranom rada pod nazivom „Praćenje fizikalno-kemijskih svojstava repičinog ulja tijekom prženja namirnica“ pod mentorstvom prof. dr. sc. Marijane Blažić.

Po završetku studija uz preporuke profesora s Veleučilišta u Karlovcu, u razdoblju od 01. lipnja 2011. do 01. ožujka 2012. radila sam preko student servisa u mikrobiološkom laboratoriju Karlovačke industrije mlijeka (KIM). Nakon toga, u razdoblju od 02. srpnja 2012. do 30. studenog 2012. radila sam kao prodajni referent u PVC stolariji LUKA d.o.o. u Karlovcu.

2013. godine upisala sam diplomski sveučilišni studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.